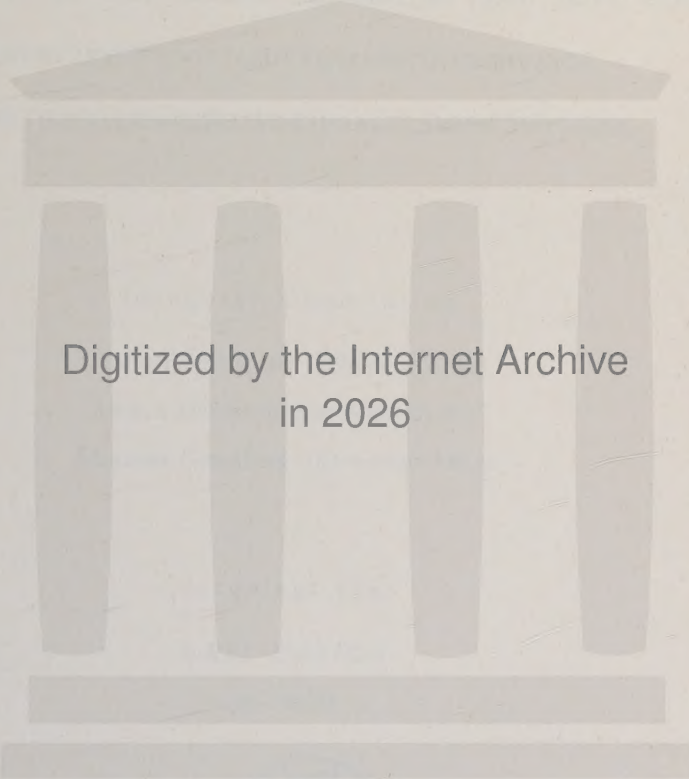




Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554416_0071

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Mainz
Direktor: Prof. Dr.med. K.Voit

DAS VERHALTEN VERSCHIEDENER SERUMENZYME (SGOT, SGPT, LDH)
UNTER ARYLSULFONYLBUTYLHARNSTOFFDERIVATEN
NACH TIEREXPERIMENTELLER THIOACETAMIDSCHÄDIGUNG

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Hohen Medizinischen Fakultät der
Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

KARL EMRICH
aus Mainz



1962

Referent: Prof. Dr. Knick
Korreferent: Prof. Dr. Voit
Dekan: Prof. Dr. Dr. Lang
Tag der mündlichen Prüfung: 15. November 1961



GESAMTHERSTELLUNG:

DITTERS BÜRODIENST, MAINZ, Augustinerstraße 64-66

INHALT

Seite

I. Einleitung	1
II. Zum Wirkungsmodus der Sulfonylharnstoffderivate	4
1) Über Einwirkungen der Sulfonylharnstoffe auf die Inselzellen des Pankreas	4
a) Sulfonylharnstoffeffekt auf A-Zellensystem und Glukagonwirkung	4
b) Sulfonylharnstoffwirkung auf B-Zellensystem des Pankreas und Insulininkretion	5
2) Die Rolle der Leber im Wirkungsmechanismus der Sulfonyl- harnstoffderivate	7
III. Zur Frage der Nebenwirkungen der Sulfonylharnstoffderivate unter besonderer Berücksichtigung der Lebertoxizität	11
1) Klinische Beobachtungen von funktionellen und Organver- änderungen unter Sulfonylharnstofftherapie	11
2) Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der leber- schädigenden Wirkung von Sulfonylharnstoffderivaten	13
IV. Sulfonylharnstoffderivate bei extradiabetischen Behandlungs- indikationen	13
V. Eigene Untersuchungen	19
A) Versuchsdisposition	19
B) Material und Methodik	19
1) Langzeitversuch mit Sulfonylharnstoffgaben	19
2) Langfristige Thioacetamidbelastungen	20
3) Zur Methodik der enzymchemischen Untersuchungen	21
a) Zur Bestimmung der Serum-Glutamat-Oxalacetat- transaminase	22
b) Zur Bestimmung der Serum-Glutamat-Pyruvat-Trans- aminase	24
c) Zur Bestimmung der Milchsäuredehydrogenase- Aktivität	25

4) Zur statistischen Auswertung der erhaltenen Enzymaktivitäten	26
a) Die Bestimmung des arithmetischen Mittelwertes und der mittleren quadratischen Abweichung	26
b) Vergleich zweier Untersuchungsserien durch Prüfung der Signifikanz ihrer Mittelwerte nach der Nullhypothese	27
C) Versuchsergebnisse	28
1) Das Verhalten der SGOT, der SGPT und der LDH bei Langzeitbelastungen von Versuchstieren mit D 860 ..	28
a) Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	28
b) Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase	31
c) Milchsäuredehydrogenase	32
1) Einwirkungen von D 860 auf die Serumenzymaktivitäten artefiziell lebergeschädigter Versuchstiere	33
a) Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	33
b) Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase	34
c) Serum-Milchsäuredehydrogenase	35
VI. Diskussion der Ergebnisse	36
VII. Zusammenfassung	40
Anhang	42
VIII. Literaturübersicht	45

I. EINLEITUNG

Die Anfänge der peroralen Diabetestherapie gehen zurück auf WATANABE, der bereits im Jahre 1918 - also schon vor der Entdeckung des Insulins - über die hypoglykämisierende Wirkung des Guanidins berichtet hatte.

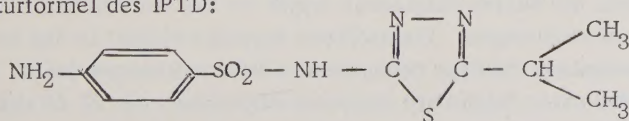
Nachdem Untersuchungen von FÜHNER und von FRANK, STERN und NOTHMANN eine nicht geringe Toxizität des Guanidins ergeben hatte, wurde zuerst von FRANK, NOTHMANN und WAGNER, später von HESSE und TAUBMANN versucht, durch systematische Abwandlung des Guanidinmoleküls jene toxischen Nebenwirkungen zu mindern. Die Versuche führten zur Entdeckung der Diguanide durch FRANK, NOTHMANN und WAGNER, deren Derivate Synthalin A und Synthalin B im Jahre 1926 zunächst Eingang in die Diabetestherapie fanden, sich jedoch nach immer wieder beobachteten massiven organotoxischen Einwirkungen auf die Dauer nicht durchsetzen konnten (BISCHOFF, SAHYUN und LONG).

Auch die Therapie mit den von SLOTTA und TSCHESCHE synthetisierten und von HESSE und TAUBMANN in den Jahren nach 1929 pharmakologisch untersuchten Biguaniden scheiterte. Erst seit etwa 3 Jahren findet in den USA ein von UNGAR, FREEDMAN und SHAPIRO eingeführtes Antidiabeticum auf Guanidinbasis, das Phenylaethylbiguanid (DBI) in wachsendem Maße Verwendung.

In Parallele zu den blutzuckersenkenden Wirkungen des Guanidins und seiner Abkömmlinge haben wir seit etwa 20 Jahren Kenntnis von hypoglykämisierenden Effekten bestimmter Sulfonamidderivate.

Im Jahre 1942 beobachteten JANBON, CHAPTAL, VEDEL und SCHAAP bei der Behandlung eines Typhus abdominalis mit p-Aminobenzol-sulfonamideisopropyl-thiodiazol (IPTD), welches von VONKENNEL und KIMMIG synthetisiert worden war, Blutzuckersenkungen, die, wie weitere Untersuchungen an gesunden Personen zeigten (JANBON, LAZERGES und METROPOLITANSKI), dem Sulfonamidspiegel im Blut parallel gingen.

Strukturformel des IPTD:



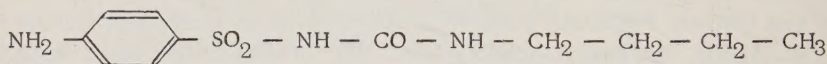
LOUBATIÈRES und Mitarbeiter konnten weiterhin aufzeigen, daß auch andere Sulfonamidpräparate den Zuckergehalt des Blutes vermindern, daß hierfür die Sulfonamidgruppe unerlässlich, die Thiodiazolgruppe und deren Seitenkette wichtig sind.

Eine wesentliche klinische Bedeutung haben die Thiodiazolderivate ebenfalls nicht erlangt. Sie wurden erst mit der Entdeckung der blutzuckersenkenden Sulfonylharnstoffderivate, im besonderen mit Bezugnahme auf gewisse Parallelen im Wirkungsmechanismus der beiden Stoffgruppen, wieder aktuell.

Die eigentliche Aera der oralen Antidiabetica begann erst mit der Einführung bestimmter doppelt substituierter Sulfonylharnstoffe in die Therapie des Diabetes mellitus. FRANKE und FUCHS berichteten über erste systematische und erfolgreiche Behandlungsversuche mit dem N-1-Sulfanyl-N-butylcarbamid (Versuchsbezeichnung BZ 55, Warenzeichen "Nadisan", "Invenol", "Oranil"), welches von HAACK synthetisiert worden war. Klinische Veröffentlichungen erschienen zur gleichen Zeit von BERTRAM, BENDTFELDT und OTTO, die ersten chemischen und pharmakologischen Untersuchungen stammen von ACHELIS und HARDEBECK.

Strukturformel des BZ 55:

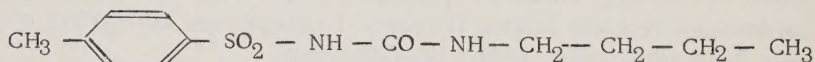
(Carbutamid)



Seit dem Jahre 1956 hat dann eine neue blutzuckersenkende Verbindung, die sich von dem BZ 55 durch das Fehlen der paraständigen Aminogruppe am Benzolkern unterscheidet, also keinen Sulfanilylsubstituenten mehr besitzt, nämlich das N-(4-Methylbenzol-sulfonyl)-N'-butylcarbamid (Versuchsbezeichnung D 860, Warenzeichen "Rastinon", "Artosin", "Orabet", "Orinase") (EHRHARDT) allgemeine klinische Verbreitung gefunden.

Strukturformel des D 860:

(Tolbutamid)



Ein Vergleich der beiden Substanzen ergibt im Grundsätzlichen keine wesentlichen Abweichungen. Unterschiede bestehen einmal in den bei klinischer Anwendung häufiger beobachteten Nebenwirkungen des BZ 55, die möglicherweise Folgen des Sulfonamidcharakters des BZ 55 sind, während dem D 860 die bakteriostatische Eigenschaft fehlt. Zum anderen ist die Wirksamkeit des BZ 55, zumindest bei Dauerdosierung, eine größere

(BERTRAM; HOFSTETTER und RAMEL; ILLIG; MARK), entsprechend der höheren Plasmahalbwertszeit gegenüber dem D 860 (BAIRD und DUNCAN; STOWERS, CONSTABLE und HUNTER).

Nach den ersten Veröffentlichungen über die Sulfonylharnstoffderivate sind innerhalb kürzester Zeit zahlreiche weitere Mitteilungen über klinische Beobachtungen und experimentelle Untersuchungen erschienen. Welch großen Umfang inzwischen das Problem der Behandlung des Diabetes mellitus mit oralen blutzuckersenkenden Substanzen in der medizinischen Forschung angenommen hat, beweist die Tatsache, daß seit dem Jahre 1955 allein über die Sulfonylharnstoffderivate weit über 1000 Publikationen vorliegen.

Während einerseits ein breites Feld von Untersuchungen über eventuelle organotoxische Einwirkungen der Sulfonylharnstoffmedikation eingenommen wird, hat im Gegensatz dazu in den letzten Jahren die Frage einer möglichen Verwendung der Sulfonylharnstoffderivate bei extradiabetischen Behandlungssindikationen Interesse gefunden. Insbesondere konnte in Studien über den Wirkungsmechanismus der oralen Antidiabetica nicht nur der Nachweis bestimmter Effekte auf den Leberstoffwechsel erbracht werden, es ergaben sich darüber hinaus Hinweise auf eine mögliche leberprotektive Wirksamkeit jener Substanzen.

In der vorliegenden Arbeit soll - angeregt durch diese Problemstellung - aufgrund tierexperimenteller Untersuchungen über funktionspathologische Studien zur Frage der Einwirkung der Sulfonylharnstoffderivate auf verschiedene Serumenzymaktivitäten berichtet werden. Damit verbunden dürften möglicherweise Aussagen zur Frage einer eventuellen Leberschutzfunktion der peroralen Antidiabetica erwartet werden.

II. ZUM WIRKUNGSMODUS DER SULFONYLHARNSTOFFDERIVATE

Die Beantwortung der Frage nach dem Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffderivate bereitet noch Schwierigkeiten. Weder über Angriffspunkt noch Wirkungsweise wurde bisher trotz zahlreicher klinischer und experimenteller Studien eine endgültige Übereinstimmung erzielt.

Immerhin haben Versuche bei total pankreatomierten Tieren (CAREN und CORBO; FRITZ, MORTON, WEINSTEIN und LEVINE; HOUSSAY und MIGLORINI; HOUSSAY und PENHOS; ROOT; SCHAMBYE), ebenso bei alloxangeschädigten Tieren (BÄNDER und SCHOLZ; CHRISTOPHE, BELLENS und GEPTS; v. HOLT, KRACHT, KRÖNER und v. HOLT; MIRSKY, PERISUTTI und JINKS; MOHNIKE, BIBERGEIL und CZYZYK; LANG und SHERRY; STEWART) gezeigt, daß die Wirksamkeit der blutzuckersenkenden Sulfonamide an die Gegenwart von funktionstüchtigem Inselgewebe mit erhaltener endogener Insulinproduktion gebunden ist.

Auch die gewonnenen klinischen Erfahrungen stützen diese These. So deutet der therapeutische Effekt der Sulfonylharnstoffe vorwiegend beim Diabetes des älteren Menschen, dessen Pankreas noch reichlich Insulin enthält, ebenso der fehlende oder nur unregelmäßig vorhandene Therapieerfolg beim jugendlichen Diabetiker ohne oder mit nur geringen Insulinreserven im Pankreas, auf die Notwendigkeit einer zumindest noch partiell intakten endogenen Insulinproduktion.

Bisher offenbleiben mußte die Frage, ob diese Wirkung in einer Erhöhung der Insulinsynthese und -ausschüttung oder in einem verzögerten Abbau des Insulins zu suchen ist, oder ob etwa bevorzugt eine Beeinflussung insulinabhängiger, fermentativer Stoffwechselprozesse besteht.

1) Über Einwirkungen der Sulfonylharnstoffe auf die Inselzellen des Pankreas

a) Sulfonylharnstoffeffekt auf A-Zellensystem und Glukagonwirkung

Die Wirksamkeit des BZ 55 im Rahmen einer direkten Pankreaswirkung wurde zunächst in Anlehnung an histologische Ergebnisse bei Tierversuchen mit IPTD, die erhebliche Veränderungen der A-Zellen des Pankreas im Sinne einer Degeneration und eines Zellverlustes ergeben hatten (v. HOLT und FERNER; v. HOLT, v. HOLT, KRÖNER und KÜHNAU), ferner unter dem Eindruck der beim Synthalin beobachteten A-Zellveränderungen (DAVIS), in einer Blok-

kierung der Glukagonproduktion gesehen (BERTRAM, BENDTFELDT und OTTO, FERNER und RUNGE, FRANKE und FUCHS). Tierversuche mit BZ 55 bei allerdings sehr hohen Dosierungen hatten ebenfalls unregelmäßige Veränderungen (Granulaverminderung und -verklumpung) ergeben (FERNER und RUNGE).

Andere Autoren konnten diese excessiven Veränderungen, sowohl bei Versuchen mit IPTD als auch mit D 860 nicht beobachten (CREUTZFELDT und BÖTTCHER, CREUTZFELDT und FINTER, CREUTZFELDT und TECKLENBORG; CHRISTOPHE, BELLENS und GEPTS; KRACHT und RAUSCH-STROOMANN; VOLK, GOLDNER, WEISENFELD und LAZARUS). Auch menschliches Sektionsmaterial von Diabetikern, die längere Zeit mit BZ 55 bzw. D 860 behandelt worden waren, ließ keine wesentlichen Schädigungen der A-Zellen erkennen (CREUTZFELDT). Schließlich sprechen gegen eine funktionelle Hemmung der A-Zellen durch Sulfonylharnstoffe Untersuchungen an Pankreasextrakten von Kaninchen (BERTHET, SUTHERLAND und MAKMAN) und von Hunden (CZYZYK; STAHL und DÖRNER), bei denen die Glukagonaktivität durch Vorbehandlung mit D 860 nicht reduziert werden konnte.

b) Sulfonylharnstoffwirkung auf B-Zellensystem des Pankreas und Insulininkretion

Gegenüber den nur vereinzelt gesehenen Veränderungen des A-Zellsystems gab eine große Reihe von in erster Linie morphologischen Untersuchungen Anlaß, zumindest einen Partialeffekt der Behandlung mit Sulfonylharnstoffderivaten in einer Aktivierung der B-Zellen des Pankreas und damit einer Stimulierung der Insulininkretion zu sehen. So wurde einmal eine Vergrößerung der B-Zellkerne bei Ratten (CREUTZFELDT, DETERING und WELTE; KRACHT, v. HOLT und v. HOLT; KRACHT und RAUSCH-STROOMANN) und bei Kälbern (PFEIFFER, STEIGERWALD, SANDRITTER und Mitarb.), nicht aber bei Kaninchen (CREUTZFELDT, DETERING und WELTE) beobachtet, zum anderen wurden gehäufte B-Zellmitosen während der Therapie mit BZ 55 und D 860 beschrieben (GEPTS; JORES und KRACHT; KRACHT, KRÖNER, v. HOLT und v. HOLT). Schließlich haben mehrere Untersucher eine Degranulation der B-Zellen im Pankreas als Zeichen einer erhöhten Zellaktivität nachgewiesen (BÄNDER, HÄUSSLER und SCHOLZ; CREUTZFELDT, DETERING und WELTE; GEPTS, CHRISTOPHE und BELLENS; KRACHT und RAUSCH-STROOMANN; MOSCA; SCHÖLER und GAARENSTROOM).

Durchgeführte Plasmainsulinbestimmungen haben die These von der unter

Sulfonylharnstoffgaben vermehrten Insulininkretion zum Teil gestützt. VAL-LANCE-OWEN, JOPLIN und FRASER, ebenso GAMBASSI und PIRELLI konnten mit Hilfe der Diaphragmamethode, PFEIFFER und Mitarb. mit Hilfe der Fettgewebsmethode (Glukoseaufnahme des Nebenhodenfettgewebes der Ratte) sowohl bei Gesunden als auch bei Altersdiabetikern (nicht dagegen bei jugendlichen Diabetikern) nach oraler und i. v. -Gabe von Sulfonylharnstoffen parallel zum Blutzuckerabfall einen merklichen Anstieg der Plasmainsulinaktivität verifizieren. Andererseits stehen diesen positiven Ergebnissen auch negative gegenüber. So fanden RENOLD und Mitarb., SELTZER und SMITH, ferner CUGADA und Mitarb. nach Sulfonylharnstoffgaben sowohl bei gesunden Menschen als auch bei Altersdiabetikern keine Erhöhung der Plasmainsulinaktivität, obwohl die Brauchbarkeit der Methodik durch erwartete positive Auswirkungen nach Insulin- und Glukosegaben bestätigt worden war.

Was den Mechanismus der Insulinfreisetzung angeht, so wurde einmal angenommen, daß die Sulfonylharnstoffe eine Ausschüttung des in löslicher Form in den B-Zellen vorliegenden aktiven Insulins (PFEIFFER, STEIGERWALD, SANDRITTER und Mitarb.) bewirken, zum anderen wurde die Möglichkeit einer Beeinflussung von Fermenten der B-Zellen, die zu einer Steigerung der Insulinabgabe führten, in Anspruch genommen (MOHNIKE). Weiterhin wurde eine Sensibilisierung der für die Insulinausschüttung verantwortlichen "Zell-rezeptoren" (BÄNDER, HÄUSSLER und SCHOLZ) und schließlich die Bildung eines Insulin-Sulfonylharnstoffkomplexes diskutiert, wobei die Entstehung einer in den Inseln nicht mehr stapelfähigen und an bestimmten Wirkorten der Leber haftenden Verbindung postuliert wurde (CREUTZFELDT und SÜTTERLE, CREUTZFELDT, DETERING und WELTE, STRAUZENBERG und HALLER).

Untersuchungen über eine Beeinflussung des Insulinabbaus durch Sulfonylharnstoffderivate ergaben keine Hinweise für eine mögliche Verzögerung. Im Gegensatz zu der von MIRSKY, PERISUTTI und GITELSON angenommenen Hemmung des Insulinabbaus besonders in der zweiten Phase der Sulfonylharnstoffhypoglykämie, die ja zumindest beim Diabetiker länger anhält als die Insulinhypoglykämie, verliefen Untersuchungen über eine Veränderung des Insulinabbaus durch Sulfonylharnstoffe, die mit Hilfe von J 131 - markiertem Insulin beim Menschen durchgeführt worden waren, negativ (BOLINGER und GRADY; COX und Mitarb., WEAVER und Mitarb.).

Zur Frage einer Potenzierung der Insulinwirkung durch Sulfonylharnstoffe beschrieben einige Autoren eine erhöhte Insulinempfindlichkeit im Sinne eines früher einsetzenden und auch steileren Blutzuckerabfalls unter Sulfonylharn-

stoffgaben bei Diabeteskranken, die an sich nicht auf die Sulfonylharnstofftherapie ansprachen (BARTELHEIMER und MARING; HALLER; MIRSKY und DIENGOTT). Andererseits spricht die klinische Beobachtung zahlreicher Untersucher, daß nämlich die Insulindosis beim einfachen Insulinmangeldiabetes durch zusätzliche Gaben von Sulfonylharnstoffen in den meisten Fällen nicht reduziert werden kann, eindeutig gegen eine Insulin-sparende Wirkung durch verzögerten Insulinabbau. Auch die Insulinempfindlichkeit von Stoffwechselgesunden und Diabetikern ist nach den Untersuchungen zahlreicher Autoren nach Gabe von Sulfonylharnstoffen nicht erhöht (BUTTERFIELD und Mitarb., CONSTAM und Mitarb., COX und Mitarb., HEINEMANN und Mitarb., KIRTLEY und Mitarb., MOHNIKE, CZYZYK und ULRICH). Auch bei zwei total pankreatektomierten Menschen war der Blutzuckerabfall nach Insulingabe nicht stärker, wenn gleichzeitig mit dem Insulin D 860 injiziert wurde (CREUTZFELDT, KÜMMERLE und KERN).

2) Die Rolle der Leber im Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffderivate

Neben der Direktwirkung der Sulfonylharnstoffe auf das Inselorgan des Pankreas wurden auch extrahormonale, insulinunabhängige Effekte, in erster Linie bestimmte enzymatische Stoffwechselreaktionen, als Folge der Sulfonylharnstoff-Medikation diskutiert.

MIRSKY stellte bereits im Jahr 1945 die Theorie auf, der menschliche Diabetes mellitus sei durch einen gesteigerten Abbau von Insulin bedingt. Versuche mit Extrakten, Gewebsschnitten, Homogenaten und am intakten Tier ergaben hinreichenden Anhalt dafür, daß vor allem in der Leber, in geringerem Grade auch in anderen Geweben, ein Fermentsystem vorkomme, das in der Lage ist, Insulin zu zerstören oder zu inaktivieren (Insulinase).

Gleichzeitig wurde die Existenz von Faktoren postuliert, welche geeignet sein sollten, diese Wirkung der Insulinase zu vermindern (Insulinase-Inhibitoren). Die Annahme, daß es sich hierbei um Enzymsysteme handelt, wurde durch pH-Aktivitätsmessungen, durch Temperatur-, Substratkonzentrations- und Hitzeaktivierungskurven wahrscheinlich gemacht.

In späteren Tierversuchen wurde die Insulinaseaktivität der Rattenleber durch Gaben von Sulfonylharnstoffen deutlich gehemmt (Absinken der Aktivität nach 60 Minuten von 167 auf 139 Einheiten). Dieser Effekt wurde als nicht kompetitive Hemmung, ähnlich wie sie durch gewisse Schwermetalle und SH-Gifte ausgeübt wird, angesehen, welche sich von der kompetitiven

Hemmung durch die natürlicherweise in der Leber vorkommenden Insulinase-inhibitoren unterscheiden soll (MIRSKY; MIRSKY, PERSUTTI und DIENGOTT).

Demgegenüber sahen COX, HENLEY und WILLIAMS, WILLIAMS und TUCKER, weiterhin BERGSON und Mitarb. sowie MORTIMORE und Mitarb. bei mit Sulfonylharnstoffen vorbehandelten Tieren keinen Effekt auf die Insulinaseaktivität und den Insulinabbau. Bei Versuchen in vitro konnte eine merkliche Hemmung der Insulinaseaktivität erst ab 100 mg D 860 und 250 mg BZ 55 pro 100 g Medium verifiziert werden (BERGSON und Mitarb., STRÄSSLE und PLETSCHER, WILLIAMS und TUCKER). VAUGHAN konnte bei ihren Versuchen in vitro, die sich über einen Konzentrationsbereich von 10 bis 80 mg% erstreckten, keine Hemmung der Insulinaseaktivität beobachten.

Klinische Fälle von relativer Insulinresistenz (CONSTAM), deren Insulinbedarf durch BZ 55 wesentlich gesenkt werden konnte, scheinen einesteils für diese Theorie zu sprechen. Zum anderen ist sie nicht unwidersprochen und letztlich unbewiesen geblieben (CREUTZFELDT; KNICK und EMRICH; PETERS).

Weiter wurden zahlreiche Untersuchungen über eine mögliche Potenzierung der Insulinwirkung im Organismus, insbesondere über Einwirkungen auf Leberenzyme und eine Beeinflussung von Fermenten des Kohlenhydratstoffwechsels angestellt. Auch hier sind viele Themen noch nicht geklärt, die Befunde zum Teil nicht gleichlautend.

Im einzelnen sind von besonderem Interesse Untersuchungen über eine Hemmung der Glykogenolyse an Leberschnitten von Ratten durch vorherige Behandlung mit Sulfonylharnstoffen (REcant und FISCHER; TYBERGHEIN, HALSEY und WILLIAMS), ferner über eine Reduktion der Glukosefreisetzung an Leberschnitten in Sulfonylharnstoffkonzentraten (BERTHET, SUTHERLAND und MAKMAN; CLARKE und Mitarb., MOHNIKE und KNITSCH), weiterhin wurde eine Hemmung der Phosphoglukomutase (KUIZENGA) und der Phosphorylasen durch Sulfonylharnstoffe (oder zumindest eine Behinderung ihrer Reaktivierung durch Glukagon- und Adrenalingaben) beobachtet (BERTHET, SUTHERLAND und MAKMAN; VAUGHAN).

Ob nachgewiesene Einwirkungen der Sulfonylharnstoffe auf die Aktivität der Glukose-6-Phosphatase von Bedeutung für deren Wirkungsmechanismus sind, ist noch umstritten. Immerhin wurde eine deutliche Abnahme der Aktivität in Leberhomogenaten bei Zugaben von D 860 beobachtet (BERTHET, SUTHERLAND und MAKMAN; ASHMORE, CAHILL und HASTINGS; MOHNIKE und KNITSCH; SUMM; WEBER und CANTERO), wenn auch bei den meisten Un-

tersuchungen ein deutlicher Effekt erst bei Konzentrationen ab 100 mg% erzielt werden konnte. Auch in vivo ergab sich bei Tieren nach Gaben von Sulfonylharnstoffen eine Aktivitätsabnahme der Glukose-6-Phosphatase. Diese wurde jedoch erst zeitlich nach der Blutzuckersenkung gesehen und vermag demnach zumindest die akute Blutzuckersenkung nicht zu erklären (ASHMORE, CAHILL und HASTINGS; FRY und WRIGHT; LINKE, RIEDERLE und SCHULZ; SUMM; WALLENFELS, SUMM und CREUTZFELDT).

Diese Befunde scheinen besonders bedeutsam, da von verschiedenen Autoren die Beteiligung der sehr stark erhöhten Aktivität der Glukose-6-Phosphatase an der Entstehung des hohen Blutzuckerspiegels beim unbehandelten Diabetes mellitus für ein entscheidendes Moment angesehen wird (ASHMORE, HASTINS, NESBETT und RENOLD; EGELY und ALP; KNITSCH; LANGDON und WEAKLY).

Eine Verminderung der Glukoneogenese als Folge einer Hemmung der Alanintransaminase durch Gaben von D 860 und BZ 55 wurde in vitro von BORNSTEIN gesehen, ähnliche Befunde beim lebenden Tier wurden von ZACCO, LEONARDU und NERINI nachgewiesen. Neuere Untersuchungen des Intermediärstoffwechsels lassen Zweifel an diesen Mechanismen aufkommen (DOWNIE, BORNSTEIN und BREIDAHN). Versuche mit Fruktose, einem Zucker, der die Insulinsekretion nicht stimuliert (POZZA und Mitarb.) und praktisch nur in der Leber verwertet wird, konnten wiederum zeigen, daß die Sulfonylharnstoffe hier hemmend auf die Glukoneogenese der Leber wirken. Eine Fruktosebelastung, die bei Diabetikern eine Hyperglykämie hervorruft, da ein Teil dieses Zuckers in der Leber zu Glukose umgewandelt wird, führte bei vorher mit Sulfonylharnstoffen behandelten Diabetikern nicht zum Glukoseanstieg im Blut, während bei den gleichen Patienten die Hyperglykämie nach Glukosebelastung unbeeinflusst blieb (BAIER; BONHOTE; MILLER und Mitarb., MOORHOUSE und Mitarb., RENOLD und Mitarb.). Schließlich spricht auch die Tatsache, daß neben der Fruktoseumwandlung auch der Umbau der Galaktose in Glukose durch Sulfonylharnstoffe gehemmt wird (RENOLD und Mitarb.), eindeutig für eine Beeinflussung der Glukosebildung.

Auch Einflüsse auf die Ketogenese als Folge von direkten Sulfonylharnstoffeffekten im Sinne einer Hemmung sind bekannt. Eine Reduktion der Ketonämie beim nicht acidotischen Diabetiker unter ketogener Diät durch D 860 wurde beschrieben (KNISSEL und Mitarb.), ferner eine erhebliche Senkung der Blutketokörper bei Altersdiabetikern, die auf die Sulfonylharnstofftherapie ansprachen (BOSHELL und Mitarb., CATTANEO).

Weiterhin sind in diesem Zusammenhang enzymchemische Untersuchungen (WALLENFELS, SUMM und CREUTZFELDT; WEBER und CANTERO) erwähnenswert, die Hinweise dafür geben, daß die Sulfonylharnstoffe unmittelbar eine größere Anzahl von pyridinnukleotidabhängigen Dehydrasen der Leber in ihrer Aktivität beeinflussen und daraus resultierende Veränderungen der mit Glukose im Fließgleichgewicht befindlichen Stoffwechselsysteme Alterationen der stationären Glukosekonzentration bedingen können. In Untersuchungen über Einwirkungen der Sulfonylharnstoffe auf Enzyme im Bereich der Glykolyse, des Pentosephosphatzyklus und des Citronensäurezyklus fanden WALLENFELS, CREUTZFELDT und SUMM einmal ähnliche Wirkungseffekte, wie sie bei dem Insulin gesehen werden, nämlich eine Normalisierung von beim Diabetiker adaptativ erhöhten Enzymaktivitäten. Darüber hinaus wurden jedoch auch für die Sulfonylharnstoffe spezifische Einwirkungen beobachtet, so eine Erhöhung der Glukokinase, der Fruktose-6-Phosphatkinase, der Phosphotriose-Isomerase und des Malatenzyms. Da es sich hierbei um eine Aktivitätssteigerung von Enzymen handelt, die im intermediären Stoffwechsel geschwindigkeitslimitierende Schritte katalysieren, wurden diese Veränderungen im Sinne einer Verbesserung der Glukoseutilisation durch Sulfonylharnstoffe gedeutet.

Schließlich verdienen Untersuchungen über Einwirkungen des BZ 55 beim sogenannten Hungerdiabetes (CHERNICK, CHAIKOFF und ABRAHAM) Erwähnung, die ebenfalls Hinweise auf eine Einflußnahme der Sulfonylharnstoffderivate auf fermentative Reaktionen des Kohlenhydratstoffwechsels liefern. Nach LAMPRECHT und TRAUTSCHOLD ist beim "Hungerdiabetes" die Hemmung der Glykolyse Folge eines Triosephosphatblocks, der nach Zuckerbelastung in Erscheinung tritt. Die gleichen Autoren konnten im Tierversuch nachweisen, daß eine Behandlung mit BZ 55 diese Blockierung durch Stimulation der Triosephosphatdehydrase beseitigen kann.

Zusammenfassend wird man zur Interpretation des Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffe aussagen dürfen, daß höchstwahrscheinlich neben der Direktwirkung an den Inselzellen des Pankreas, wie auch immer sie sich abspielen möge, gewissen extrahormonalen, enzymatischen Reaktionen ein nicht unwesentlicher Partialeffekt zuzubilligen ist, daß möglicherweise durch ein Zusammenspiel dieser beiden Mechanismen der hypoglykämisierende Stoffwechseleffekt zustande kommt. Bei der Frage des antidiabetischen Einflusses der genannten Substanzen stehen neben dem Inselorgan also intermediäre Stoffwechselvorgänge und damit die Leber als zentralem Organ im Mittelpunkt des Interesses.

Im folgenden sollen in erster Linie Fragen, die Auswirkungen der Sulfonylharnstoffderivate auf den Leberstoffwechsel betreffen, zur Diskussion gestellt werden.

III. ZUR FRAGE DER NEBENWIRKUNGEN DER SULFONYLHARNSTOFFDERIVATE UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER LEBERTOXIZITÄT

Neben vereinzelt beobachteten Überempfindlichkeitserscheinungen bei Sulfonylharnstoffmedikation, die in erster Linie als Reaktionen seitens der Haut (BURCKHARDT und SCHWARZSPECK; FELLER und KÜPPER; SCHREUS und IPPEN; KRESBACH; STERZING; WOLFF, STEWART und CROWLEY) und des hämatopoetischen Systems - hier im Sinne von schweren Leukopenien und Agranulozytosen (AARSETH und WILLUMSEN; KAEDING; NEUDECK; PAGE und Mitarb., POSSNER; VARELA FUENTES und Mitarb., WALDMANN; WENDEROTH und BALZEREITH) - in Erscheinung traten, wurden auch zur Frage der Lebertoxizität der Sulfonylharnstoffderivate verschiedentlich klinische und experimentelle Erfahrungen für die Vermutung eines hepatotoxischen Einflusses in Anspruch genommen. Die kritische Einstellung einzelner Untersucher wurde einmal durch die Tatsache von beobachteten Leberschädigungen bei den früher erprobten blutzuckersenkenden Guanidinpräparaten vom Typ des Synthalin (BLATHERWICK, SAHYUN und HILL; CREUTZFELDT und MOENCH; VARELA, COLLAZO und RUBINO), zum anderen durch vereinzelt Mitteilungen, besonders in der anglo-amerikanischen Literatur, über leberschädigende Einwirkungen des BZ 55 gestützt.

1) Klinische Beobachtungen von funktionellen und Organveränderungen unter Sulfonylharnstofftherapie

Im Jahre 1957 berichtete KIRTLEY über 2 tödliche Gelbsuchtsfälle während der Behandlung mit BZ 55. WILD und LINDEN, ferner CAMERINI-DAVALOS, ROTT und MARBLE sahen je einen Ikterus mit cholestatischer Hepatose. Vereinzelt wurde eine Verschlechterung des bereits vor Sulfonylharnstofftherapie pathologischen Bromthaleintestes und der alkalischen Serumphosphatase bei Diabetikern beobachtet (MARBLE und CAMERINI-DAVALOS), Erfahrungen, die von Nachuntersuchern jedoch nicht bestätigt werden konnten (BERTRAM; QUITZOW, SPIES und WUNDRACK-WALDHEIM; SACHSSE). Veränderungen der Serumeiweißfraktionen (MÜTING) erwiesen sich als nicht signifikant und wurden ebenfalls von anderen Untersuchern nicht bestätigt (FURTHMÜLL-

LER, KÜHNE, MARTINI und STÖTTER). Eine allergische Hepatitis (TULLOCH) trat im Rahmen einer schweren Überempfindlichkeitsreaktion unter Sulfonylharnstoff-Therapie auf. Auch bei dem von WILD und LINDEN beschriebenen Fall bestand ein allergisches Hautexanthem neben der Hepatitis.

Überblickt man die bisher beobachteten Fälle von Leberschädigungen unter Sulfonylharnstofftherapie, so darf man konstatieren, daß in dem überaus großen zur Verfügung stehenden Krankengut von sulfonylharnstoffbehandelten Diabetikern nur extrem selten ein Leberschaden gesehen wurde, daß dieser sich häufig im Rahmen allgemeiner allergisch-toxischer Zustandsbilder darstellte, was den Schluß zuläßt, daß die meisten verifizierten Leberschädigungen gleichsam indirekte Folgen der Sulfonylharnstofftherapie im Rahmen einer Allgemeinreaktion sind und nicht Ausdruck einer direkt schädigenden Parenchymzelleinwirkung. Im übrigen bleibt fragwürdig, inwieweit an den jeweils objektivierten Funktionsstörungen nicht vorbestehende Hepatopathien oder interkurrente Infekte mitbeteiligt waren, wie sie bei Diabetikern in gehäuftem Maße auftreten. So wurden einzelne Gelbsuchtsfälle unter D 860 als interkurrente Virushepatitiden gedeutet (GREIF; MOHNIKE, ULRICH und JUTZI; SEIDLER und Mitarb.), da sich gegenüber Diabetikern, die keine Sulfonylharnstoffe erhielten, keine Häufungen fanden,

Darüber hinaus sprechen umfassende klinische Prüfungen an einem Patientengut, welches viele Tausende von Diabeteskranken umfaßt, auch bei langfristiger Anwendung der Sulfonylharnstoffpräparate für deren Unschädlichkeit. Es wurden in großen Reihenuntersuchungen nicht nur bei lebergesunden Diabetikern keine das Leberparenchym schädigende Wirkung konstatiert, sondern auch lebergeschädigte Diabetiker zeigten mit nur vereinzelten Ausnahmen (BOLLER und KÖCK; KÜHNLEIN; LAWRENCE; MEHNERT und GEROGII) keine Verschlechterung der hepatologischen Befunde (DOLGER; HOFSTETTER und RAMEL; SEIDLER und Mitarb.).

Auch bioptische und autoptische Untersuchungen von Diabeteskranken, die über längere Zeit BZ 55 oder D 860 erhielten, ergaben keinen Anhalt für einen leberparenchymschädigenden Effekt dieser Substanzen. Die Quote der nachgewiesenen Leberveränderungen überschritt nicht das Ausmaß der bei unbehandelten oder nur mit Insulin substituierten Diabetikern anzutreffenden Leberschäden (BEBER und BEBER; BERINGER und THALER; CABARROU und Mitarb., CREUTZFELDT; GEPTS; SACHSSE).

2) Tierexperimentelle Untersuchungen zur Frage der leberschädigenden Wirkung von Sulfonylharnstoffderivaten

Im Tierexperiment wurden in den meisten chronischen Toxizitätsversuchen mit BZ 55 und D 860 keine morphologischen Leberveränderungen beobachtet. Erst in Fütterungsversuchen an Ratten und Kaninchen mit wesentlich erhöhten Blutkonzentrationswerten (Tagesdosen von 1 g/kg Körpergewicht und darüber) ließen sich pathologische Veränderungen im Sinne eines größeren Verfettungsgrades der Leberzellen nachweisen (BÄNDER; CREUTZFELDT und FINTER; SCHOLZ und BÄNDER). Nur KRACHT, v.HOLT und v.HOLT sahen in mehrmonatigen Belastungen mit BZ 55 schon bei Tagesdosen unter 0,3 g/kg mittel- bis grobtropfige Leberzellverfettungen. KNICK konnte zunächst vermutete Veränderungen an Rattenlebern in späteren Langzeitversuchen nicht reproduzieren. Bei Hunden wurde von einzelnen Untersuchern schon bei relativ niedriger Dosierung von 30 mg D 860/kg Körpergewicht pathologische Leberzellveränderungen (SIREK, LOGOTHETOPOULOS und BEST) sowie eine Abnahme der Bromsulfaleinclearance (ELRICK und PURNELL) konstatiert, von anderer Seite konnten derartige Befunde nicht bestätigt werden (BÄNDER; BÄNDER und SCHOLZ). Inwieweit erhaltene pathologische Leberbefunde bei unter Sulfonylharnstoffbelastung stehenden pankreaslosen Hunden - es wurden zum Teil Leberverfettung, Ikterus, verminderte Albumin- und Prothrombinsynthese und pathologische Bromthaleinretention gesehen (CAMPBELL und LAZIDINS; RICKETTS, WILDBERGER und SCHMID; SCHAMBYE; SIREK, SIREK und BEST; SIREK und Mitarb.) - Beachtung verdienen, muß vorläufig offenbleiben.

IV. SULFONYLHARNSTOFFDERIVATE BEI EXTRADIABETISCHEN BEHANDLUNGSINDIKATIONEN

Das therapeutische Anwendungsgebiet der Sulfonylharnstoffderivate blieb nicht auf die geeigneten Formen des Diabetes mellitus allein beschränkt. im Laufe der vergangenen Jahre wurde über therapeutische Versuche und Behandlungserfolge auch bei extradiabetischen Indikationen berichtet. So wurden günstige Einflüsse auf Angina pectoris-Anfälle bei Diabetikern (STOETTER) und Nichtdiabetikern (SINGH und BARDHAM) gesehen. In der Psychiatrie wurde über eine mit BZ 55 kombinierte Insulin-Schocktherapie berichtet (VOELKEL; BAYREUTHER), weiterhin teilte FROST eine günstige Beeinflussung des psychotischen Zustandsbildes bei Schizophrenen mit. Seitens

der Dermatologie liegen positive Befunde der Therapie der Psoriasis (KABELITZ und KAPPEL; NEUMANN) und eitriger Hautinfektionen (COHEN und COHEN) mit Sulfonylharnstoffen vor.

In der Folge der Studien über den Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffderivate, welcher Hinweise auf enzymatische Beeinflussungen des Leberstoffwechsels ergeben hatte, gewann die Frage nach möglichen positiven Einflüssen auf die kranke Leber und ihren Stoffwechsel ein besonderes Interesse.

In diesem Zusammenhang ist erwähnenswert, daß schon im Jahr 1941 über leberprotektive Sulfonamide, nämlich über die Leberschutzwirkung von Sulfanilamid, Sulfathiazol und Sulfapyridin bei der Tetrachlorkohlenstoffschädigung der Ratte berichtet wurde (LEACH und FORBES). Diese Befunde wurden später von WILSON und LEDUC bestätigt. Die bakteriostatische Eigenschaft der Sulfonamide spielte dabei offenbar keine Rolle. Eine Leberglykogenanreicherung wurde nicht beobachtet.

Untersuchungen über das Verhalten des Glykogenstoffwechsels der Leber unter Sulfonylharnstoffderivaten erbrachten Hinweise auf mögliche leberprotektive Eigenschaften dieser Substanzen.

Es fanden sich neben der dem Insulin und den oralen Antidiabetica gemeinsamen blutzuckersenkenden Wirkung charakteristische Unterschiede in bezug auf die Veränderungen des Intermediärstoffwechsels. Während die Sulfonylharnstoffe mit dem Insulin eine intensivierte Glukoseaufnahme der Körperperipherie, eine vermehrte Glukoseoxydation sowie einen gesteigerten Muskelglykogenumsatz gemeinsam haben, bewirken sie abweichend vom Insulin-effekt einen Anstieg des Leberglykogens.

Eine Reihe von experimentellen Daten über eine selektive Glykogenanreicherung insbesondere bei glykogendepravierten Lebern von stoffwechselgesunden Versuchstieren ist bekannt. Während bei der Ratte und der Maus unter Insulingaben eine Abnahme des Leberglykogens erzielt wurde (BERINGER; CORI und CORI; SWENSSON), konnte bei Fütterungsversuchen mit Sulfonylharnstoffen sowohl bei fastenden Ratten als auch bei Meerschweinchen und Kaninchen regelmäßig eine Leberglykogenvermehrung beobachtet werden (BÄNDER und SCHOLZ; BERINGER und KEIBL; BERINGER und LINDNER; CREUTZFELDT und SÜTTERLE; v. HOLT, v. HOLT und KRÖNER; FRY und WRIGHT; MILLER und DULIN; TYBERGHEIN, HALSEY und WILLIAMS).

Auch in Leberpunktaten beim Menschen wurde nach Gaben von D 860

eine Zunahme des Leberglykogens gesehen (BERINGER und KEIBL; BERINGER und THALER).

Studien mit C_{14} markierter Glukose konnten einen vermehrten Einbau der Glukose in Leberglykogen unter Einfluß der Sulfonylharnstoffe bei Ratten und Kaninchen zeigen (ASHMORE und Mitarb., BERINGER und HOFMANN-CREDNER; KRAKE und VANDERBROOK; MILLER, KRAKE und VANDERBROOK). Darüber hinaus sprechen Untersuchungen über eine gesteigerte Glukoneogenese (Zunahme der spezifischen Aktivität des Leberglykogens nach Injektion von C_{14} -Glykokoll, MILLER, KRAKE und VANDERBROOK) für eine vermehrte Zuckerutilisation der Leber nach Sulfonylharnstoffgaben, ein Effekt, der dem Insulin nicht eigen ist.

Auch Untersuchungen über die periphere Glukoseassimilation, die sich aus dem Abfall der spezifischen Aktivität der Plasmaglukose nach Markierung des Glukosepool mit einer C_{14} -markierten Glukosegabe bestimmen läßt, lieferten Hinweise für eine glykogenspeichernde Wirkung der Sulfonylharnstoffderivate in der Leber. JAKOBS und Mitarb. untersuchten den Abfall der spezifischen Aktivität der Plasmaglukose nach Injektion von Insulin und D 860. Während sie nach Insulingaben den typischen scharfen Abfall der Aktivitätskurve beobachteten (die durch Insulin erhöhte periphere Glukoseassimilation führt zu einem gesteigerten Nachstrom von nicht markierter Glukose aus der Leber), kam es nach Injektion von D 860 zur Ausbildung eines deutlichen Plateaus in der Basisurve, was als Zeichen einer verminderten Glukoseabgabe aus der Leber gedeutet wurde. In ähnlichen Versuchen bei Diabetikern (SEARLE und Mitarb.) und auch in Tierversuchen (TARDING und SCHAMBYE; SCHAMBYE und TARDING) kommt dies ebenfalls zum Ausdruck. Auch hier wurde nach Injektion von D 860 eine momentane und anhaltende Plateaubildung in der Kurve der spezifischen Aktivität beobachtet.

Diese Befunde werden zusätzlich gestützt durch die schon erwähnte Beeinflussung des Glykogenabbaus der Leber mit Hemmung der Glukose-6-Phosphatase und der in vitro nachgewiesenen Inhibition der Glykogenolyse unter Sulfonylharnstoffverbindungen.

Schließlich steht die unter Sulfonylharnstoffen nachgewiesene verminderte Glukoseabgabe der Leber (Absinken der Glukosekonzentration im Lebervenenblut) hiermit in Einklang (ASHMORE und Mitarb., ANDERSON und Mitarb., PURNELL und Mitarb., TARDING und SCHAMBYE).

Ausgehend von den genannten experimentellen Daten und der Annahme von

LICHTWITZ, UMBER und EPPINGER, daß die Glykogenanreicherung der Leber ein therapeutisches Moment darstelle, wurde die Frage des möglichen Leberschutzeffektes der Sulfonylharnstoffe erstmals in klinischen Untersuchungen bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen zur Diskussion gestellt (KNICK und EMRICH), wobei gewisse Besserungen der Bromthaleinausscheidung und der eiweißchemischen Befunde zu verzeichnen waren.

Zu dem Problem einer möglichen Leberschutz-Wirksamkeit der Sulfonylharnstoffderivate erschienen in der Folge Mitteilungen sowohl über tierexperimentelle Untersuchungen als auch über klinisch-therapeutische Versuche.

Im einzelnen scheinen folgende Befunde erwähnenswert. Es wurde über einen positiven Einfluß des BZ 55 auf die experimentelle Tetrachlorkohlenstoffintoxikation der Leber bei Meerschweinchen im Sinne einer niedrigeren Mortalität berichtet (SIMKO). Ferner wurde an Hand von Allylalkoholschädigungen und ebenfalls von CCl_4 -Vergiftungen auf die nekrotischen Eigenschaften der Sulfonylharnstoffe hingewiesen (EICKSTEDT; EGER und REINCKE) und dabei frühere Untersuchungen von anderer Seite zum Teil bestätigt (BRAUN und Mitarb., KIRNBERGER). Weiterhin wurde über hemmende Effekte der Sulfonylharnstofftherapie auf das proliferierende Bindegewebe bei experimenteller Tetrachlorkohlenstofffibrose der Leber berichtet (PETZOLD und STÖHR). KALDOR und Mitarb. konnten keinen sicheren Einfluß des D 860 auf die durch CCl_4 -Intoxikation hervorgerufenen Parenchymnekrosen der Leber nachweisen, beobachteten jedoch eine deutliche Erhöhung des Leberglykogengehalts der Behandlungsgruppe.

Inwieweit diese inkongruenten Ergebnisse als Ausdruck eines spezifischen Effektes der Sulfonylharnstoffderivate angesehen werden können, muß dahingestellt bleiben. Wie oben schon angeführt, wurde bereits vor fast 20 Jahren ein hepatotroper Charakter verschiedener Sulfonamide bei der tierexperimentellen Tetrachlorkohlenstoffschädigung nachgewiesen (LEACH und FORBES), ein Befund, der an mit der Noxe kompetitiv einhergehende Wirkungen denken läßt.

Bei experimenteller Thioacetamidschädigung der Leber ließ sich, zumindest bei kurzfristigen Belastungen (GEORGII und Mitarb., KNICK, RUCKES und EMRICH; MEHNERT und GEORGII), eine gewisse leberprotektive Wirkung der Sulfonylharnstoffe bei geringerer Leberzellverfettung und weniger stark ausgeprägter entzündlicher Infiltration des Leberparenchyms der Behandlungsgruppe vermuten. Langzeitversuche ließen allerdings keine eklatanten Unterschiede zugunsten der sulfonylharnstoffbehandelten Tiere erkennen. GEORGII und

Mitarb. beobachteten nach monatelanger kombinierter Gabe von Thioacetamid und D 860 sogar eine Intensivierung der Leberveränderungen gegenüber alleiniger Thioacetamidvergiftung. Unter D 860 sah PETZOLD eine weitgehende Hemmung der Manifestation einer tierexperimentellen Fettleber, wobei eine gleichzeitig konstatierte Steigerung der sauren und alkalischen Gewebsphosphatasenaktivität mit einer Umwandlung des Fettes in plasmagängige Lipide in Zusammenhang gebracht wurde (PETZOLD und STÖHR). Eine histochemisch im Tierversuch beobachtete Zunahme der Zytochromoxydase der Leber unter Sulfonylharnstoffgaben wurde als Ausdruck einer schnelleren Leberregeneration betrachtet (PETZOLD). RÖTTGER untersuchte den Einfluß des D 860 auf die Regeneration der Rattenleber im Anschluß an eine dreimonatige Vergiftung mit Thioacetamid und fand keine Unterschiede gegenüber einer Kontrollgruppe.

Über klinische Erfahrungen der Sulfonylharnstofftherapie bei akuten und chronischen Leberkrankheiten wurde von mehreren Untersuchern berichtet. Neben den schon erwähnten günstigen Ergebnissen in bezug auf die Reversibilität von pathologischen Labilitätsproben und Leberfunktionstests bei chronischen Lebererkrankungen (KNICK und EMRICH), teilten LASZLO und Mitarb. positive Effekte der Sulfonylharnstoffderivate bei einer Reihe von akuten Hepatitiden mit. Die Autoren gaben 50 Patienten mit akuter Hepatitis D 860 und fanden einen rascheren Abfall des Serumbilirubins, ein früheres Abklingen der subjektiven Beschwerden und eine Abkürzung der notwendigen Behandlungszeit. PFEFFER und Mitarb. behandelten 14 Nichtdiabetiker mit akuter, 16 mit chronischer Hepatitis und 13 Patienten mit Leberzirrhose über mehrere Wochen mit BZ 55 und glaubten bei den akuten und chronischen Hepatitiden eine Besserung der Leberfunktionstests bei allerdings nicht immer synchron veränderten bioptischen Befunden ablesen zu können. MAGYAR und Mitarb. sahen bei kurzfristiger Sulfonylharnstoffbehandlung von 12 Patienten mit chronischer Hepatitis bzw. Leberzirrhose keine wesentlichen Veränderungen.

Bei der Therapie leberkranker Diabetiker mit Sulfonylharnstoffderivaten konnten keine signifikanten Alterationen der Serumlabilitätsproben und Leberfunktionstests, ferner keine veränderten bioptischen Befunde erhoben werden. So berichtete CREUTZFELDT über 10 Diabetiker mit Leberzirrhose, die monatelang mit D 860 in der üblichen Dosierung behandelt wurden und bei denen weder positive noch negative Effekte der Sulfonylharnstofftherapie auf den Ablauf der Lebererkrankung festgestellt werden konnten. Im gleichen Sinne liegen Veröffentlichungen von DOLGER, von HOFSTETTER und RAMEL

und von SEIDLER und Mitarb. vor, die bei Diabetikern mit akuter Hepatitis die Sulfonylharnstofftherapie fortführten oder Diabetiker mit Leberzirrhose einer Behandlung mit Sulfonylharnstoffderivaten unterzogen.

In Anbetracht der erst in geringer Anzahl vorliegenden zum Teil widersprechenden klinischen und experimentellen Untersuchungsergebnisse, ebenso der unzureichenden Eignung der durchgeführten Modellversuche im Vergleich mit Hepatopathien der menschlichen Pathologie scheint zum jetzigen Zeitpunkt eine endgültige Aussage über die Anwendbarkeit der Sulfonylharnstoffderivate im Sinne einer Leberschutztherapie bei akuten und chronischen Lebererkrankungen noch nicht möglich.

Die Arbeitshypothese, daß die Glykogenanreicherung der Leber ein therapeutisches Moment darstelle, ist bisher durch keine sicheren experimentellen und klinischen Befunde belegt, zumal der glykogenanreichernde Sulfonylharnstoffeffekt nur bei hungerndem Organismus wirksam wird (BÄNDER und SCHOLZ; BERINGER und KEIBL; CREUTZFELDT und SÜTTERLE; v. HOLT, v. HOLT und KRÖNER; TYBERGHEIN, HALSEY und WILLIAMS). Als erwiesen kann bei dem umfassenden Überblick über diabetisches Krankengut mit Leberkomplikationen gelten, daß eine langfristige Sulfonylharnstofftherapie in antidiabetischer Dosierung bei vorbestehender Hepatopathie nicht zusätzlich schädigend wirkt. Eine primäre Lebertoxizität der Sulfonylharnstoffderivate wurde in Untersuchungen an einem immensen diabetischen Beobachtungsgut ausgeschlossen. Ob sich ein hepatotroper Schutzeffekt der Sulfonylharnstoffmedikation erweisen läßt, müssen weitere langjährige Beobachtungen sowie ergänzende experimentelle Untersuchungsanordnungen lehren, zu denen die vorstehende Arbeit einen weiteren, vorläufigen Beitrag liefern soll.

V. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

Im folgenden soll aufgrund tierexperimenteller Untersuchungen über funktionspathologische Studien zur Frage der Einwirkung der Sulfonylharnstoffe auf verschiedene Serumenzymaktivitäten berichtet werden. Zusätzliche Untersuchungen sollten zum Fragenkomplex der eventuellen Leberschutzfunktion der peroralen Antidiabetica ergänzende Aussagen erwarten lassen.

A) VERSUCHSDISPOSITION

Es wurde einmal in Langzeitversuchen das Verhalten bestimmter Transaminasen (der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase) sowie der Serum-Milchsäuredehydrogenase bei unterschiedlicher Sulfonylharnstoffbelastung von Versuchstieren beobachtet.

Zum anderen wurden die gleichen Untersuchungen bei Versuchsgruppen mit artefiziellen Leberschäden, von denen ein Teil unter gleichzeitiger Sulfonylharnstoffmedikation stand, unter histologischer Kontrolle angestellt.

B) MATERIAL UND METHODIK

Es standen 3 Tierkollektive von je 40 männlichen Albinoratten mit einem Körpergewicht zwischen 200 und 250 Gramm zur Verfügung. Die Tiere wurden unter konstanten Nahrungsbedingungen in der von SCHWIETZER angegebenen Grundkost (20 Teile Trockenbrot, 20 Teile Kleie, 25 Teile Brotmehl, 35 Teile Kartoffeln und das übliche Salzgemisch) gehalten. Sie waren gruppenweise zu je 4 Tieren untergebracht.

1) Langzeitversuch mit Sulfonylharnstoffgaben

An das erste Tierkollektiv wurde in unterteilten Versuchsgruppen von je 16 Ratten täglich D 860 verabreicht, und zwar in der Dosierung von 500 und 1000 mg/kg Körpergewicht. Die Applikation der in Form ihres Natriumsalzes gelösten Substanz erfolgte durch die Schlundsonde. Eine weitere Versuchsgruppe von Kontrolltieren wurde für den gleichen Zeitraum lediglich mit Wasser scheingefüttert. Sämtliche Tiere wurden wöchentlich gewogen. Von den einzelnen Versuchsgruppen wurde eine jeweils gleiche Anzahl nach einem Monat, nach sechs, acht und neun Monaten getötet durch Dekapitation und aus dem Serum die beiden genannten Transaminasen und die Milchsäuredehydrogenase bestimmt.

2) Langfristige Thioacetamidbelastungen

Als Modellversuch einer artefiziellen Leberschädigung wurde für zwei Tierkollektive von je 48 Ratten die in Vorversuchen graduell studierte Thioacetamidschädigung (KNICK, RUCKES und EMRICH) verwandt, und zwar wurden täglich je 10 mg in Wasser gelöstes Thioacetamid durch die Schlundsonde für die Dauer von 6 1/2 Wochen verfüttert. Neben einer Kontrollgruppe, die keinerlei Medikamente erhielt, wurden unterteilte Versuchsgruppen eines teils synchron mit der Thioacetamidschädigung, sowie für die Dauer von 10 Wochen nach Absetzen der Noxe, zum anderen ausschließlich für 10 Wochen nach Absetzen der Thioacetamidschädigung täglich mit 250 mg D 860/ kg Körpergewicht sondengefüttert. Auch hier wurden - bei histologischer Kontrolle der Verlaufsphasen - im gleichen Zeitabstand nach Versuchsbeginn die genannten Serumenzymaktivitäten bestimmt und die einzelnen Versuchsgruppen in den verschiedenen Stadien untereinander sowie mit den Befunden des Kollektivs scheingefütterter Leertiere verglichen.

Nach Untersuchungen von FITHUGH und NELSON, von GUPTA und von HEIZER, ferner nach Mitteilungen von RATHER, von SCHWIETZER und von SCHAETZ, kann die Leber von Versuchstieren durch Gaben von Thioacetamid im Laufe von Wochen und Monaten so geschädigt werden, daß über eine je nach Dosierung akut bis subakut verlaufende Hepatitis, in erster Linie einer interstitiellen Hepatitis, Umbauvorgänge erreicht werden, die dem Bild einer menschlichen Leberzirrhose in starkem Maße ähneln.

In eigenen Vorversuchen (KNICK, RUCKES und EMRICH) mit Thioacetamidgaben bei Albinoratten wurden diese Befunde bestätigt. Neben Veränderungen der Zellkerne, vor allem in der Läppchenperipherie, des Cytoplasmas und der Zellgrenzen fanden sich zahlreiche vergrößerte und aufgelockerte Glisson'sche Felder, die einen erhöhten Zellreichtum aufwiesen und aus denen jugendliche Bindegewebszellen und Gallengangsprossen in die untergehende läppchenperiphere Zone einwuchsen. Hier und da bildeten sich schmale, aus jungem Bindegewebe, Gallengangsprossen und Lymphozyten bestehende Septen, die tief in das Lebergewebe hineinragten und verschiedentlich Anschluß an die ebenso veränderten Nachbardreiecke erhielten. Das histologische Bild entsprach also einem massiven Leberzellschaden mit beginnender Leberzirrhose.

3) Zur Methodik der enzymchemischen Untersuchungen

Die Tatsache, daß sich bestimmte Transaminasen und die Milchsäuredehydrogenase in besonders hoher Konzentration neben dem Herzmuskel in der Leber finden (AWAPARA und SEALE; COHEN und HEKHIUS; STEINBERG und OSTROW) und daß es vor allem bei akuten und subakuten Lebererkrankungen zu erheblichen Aktivitätsschwankungen dieser genannten Fermente kommen kann (CHINSKY und Mitarb., DE RITIS und Mitarb., HORN und AMELUNG, HSIEH und BLUMENTHAL, MOLANDER, WROBLEWSKI und LA DUE; WROBLEWSKI und LA DUE), legte den Gedanken nahe, bei Untersuchungen, die sich in erster Linie mit der Frage nach möglichen hepatotoxischen bzw. hepatotropen Schutzeffekten bestimmter Substanzen befassen, das Verhalten jener Enzymaktivitäten als Indikatoren in einer Reihe von Modellversuchen zu beobachten.

Die bisher vorliegenden Untersuchungen über das Zustandekommen des Fermentanstiegs im Serum bei Lebererkrankungen sprechen dafür, daß zellständige Fermente durch Schädigung der Leberzellen freigesetzt werden und ins Blut gelangen. So nahm bei experimentellen Leberschädigungen die Konzentration z. B. der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase in der Leber stark ab bei gleichzeitigem Anstieg im Serum, und zwar war die zu beobachtende SGOT-Vermehrung dem Umfang der nach Tötung der Tiere histologisch festgestellten Lebernekrosen weitgehend proportional (MOLANDER, WROBLEWSKI und LA DUE). Auch bei der experimentellen Virushepatitis der Mäuse ließen sich enge Beziehungen zwischen der Höhe der SGOT-Aktivität und dem Umfang der Lebernekrosen nachweisen (DE RITIS, COLTORTI und GIUSTI; WROBLEWSKI und LA DUE). Diese experimentellen Befunde werden durch klinische Beobachtungen ergänzt, nach denen enge Beziehungen zwischen der Schwere des Krankheitsbildes und der Höhe und Dauer des Anstiegs der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase und der Serum-Milchsäuredehydrogenase bestehen (DE RITIS, COLTORTI und GIUSTI; HORN und AMELUNG; WROBLEWSKI und LA DUE).

Bei den hier durchgeführten Untersuchungen wurde das Verhalten

- a) der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT),
- b) der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT) und
- c) der Serum-Milchsäuredehydrogenase (LDH) beobachtet.

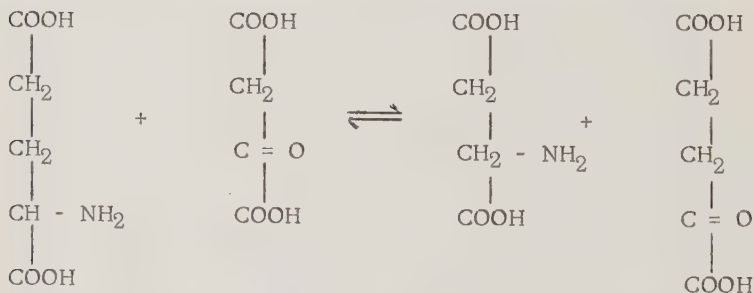
Die Bestimmungsmethoden der genannten Fermente arbeiten nach dem Prin-

zip des von WARBURG angegebenen optischen Tests. Hierbei wird das Ferment nicht direkt quantitativ erfaßt. Man bestimmt vielmehr die Aktivität des Enzyms, oder anders ausgedrückt, die Geschwindigkeit des Umsatzes einer im Überschuß zugesetzten Menge des spezifischen Substrates. Als Maß für die Geschwindigkeit des Umsatzes dient die pro Zeiteinheit entstehende Menge des Endproduktes oder aber der Verbrauch eines bei der Fermentreaktion mitbeteiligten Co-Faktors. Meßgröße ist die Lichtabsorption des Endproduktes oder des Co-Faktors. Da durch die Einwirkung des zu bestimmenden Fermentes die als Meßgröße verwandte Substanz entsteht oder verschwindet, ist die Geschwindigkeit, mit der die photoelektrisch gemessene Lichtabsorption zu- oder abnimmt, das Maß der Fermentwirkung. Voraussetzung ist natürlich, daß die Meßsubstanz eine meßbare Lichtabsorption hat. Sollte dies nicht der Fall sein, so kann man die Fermentaktivität mittels des zusammengesetzten optischen Tests bestimmen, wobei man die zu prüfende Fermentreaktion mit einer zweiten koppelt, die dann eine meßbare Absorption ergibt. Am häufigsten wird als Meßsubstanz das Diphosphorpyridinnucleotid verwandt. Es ist als wasserstoffübertragendes Co-Ferment an vielen Fermentreaktionen beteiligt und durch günstige Absorptionsmaxima charakterisiert (EULER; GREEN und BEINERT; KAPLAN).

a) Zur Bestimmung der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Das Enzym Glutamat-Oxalacetat-Transaminase katalysiert folgende Gleichgewichtsreaktion:

Glutaminsäure + Oxalessigsäure = Asparaginsäure + Alphaketoglutaronsäure.



Die Aktivität der Transaminase wird gemessen bei der von rechts nach links ablaufenden Reaktion durch Bestimmung der zeitlichen Zunahme der entstehenden Oxalessigsäure. Diese wird in einer zweiten, sogenannten Indikator-

reaktion durch Zusatz von Apfelsäuredehydrogenase unter Verbrauch von reduziertem Diphosphopyridinnukleotid (DPN-H) zu Apfelsäure umgesetzt:



Der gemessene DPN-H Umsatz entspricht demnach der Oxalessigsäurebildung und ist damit ein Maß für die Aktivität der SGOT.

Reagentien.

Zur Bestimmung der SGOT wurden folgende Reagentien verwendet:

- 1) Primäres und sekundäres Kaliumphosphat zur Herstellung des Phosphatpuffers von pH 7,4.
- 2) 1 (+)-Asparaginsäure in ihrem Natriumsalz.
- 3) Alpha-Ketoglutarinsäure in ihrem Natriumsalz.
- 4) Reduziertes Diphosphopyridinnukleotid (DPN-H).
- 5) Apfelsäuredehydrogenase.

Fermentansatz.

In eine Cuvette werden nacheinander einpipettiert:

2,3 ml der gepufferten Asparaginsäure, 0,05 ml in Aqua bidest. gelöstes DPN-H, 0,05 ml Apfelsäuredehydrogenase in einer Lösung von 0,5 mg Enzymprotein im ml. Dazu wird 0,5 ml Serum gegeben.

Nach einer Vorinkubationszeit von etwa 20 Minuten in thermokonstantem Wasserbad von 25 Grad Celsius, in der die im Serum bereits vorhandene Oxalessigsäure zu Apfelsäure reduziert wird, wird durch Zugabe von 0,10 ml der 0,2 m Alphaketoglutarinsäure die eigentliche Reaktion in Gang gebracht. Die Aktivitätsmessung erfolgt durch Ablesen der Extinktionsabnahmen gegen einen Reagentienleerwert (mit Wasser statt Serum) in regelmäßigen Zeitabständen von 2 Minuten bei 340 oder 366 m μ . Aus den gemessenen Werten bildet man den Mittelwert $\Delta E/\text{min}$. Das Serum wurde in den vorliegenden Versuchen jeweils im Verhältnis 1 : 7 mit Wasser verdünnt.

Berechnung.

Nach der Definition von LA DUE, WROBLEWSKI und KARMEN ist eine Einheit der Transaminasemenge in 1 ml Serum, die bei 25 Grad Celsius im 3 ml-Ansatz die DPN-H-Extinktion bei 340 m μ in einer Minute um 0,001 ändert. Für die bei 366 m μ erfolgte Messung ist zur Berechnung der SGOT-Einheiten gemäß dem Verhältnis der Extinktionskoeffizienten von DPN-H für 340 bzw. 366 m μ mit 1,89 zu multiplizieren.

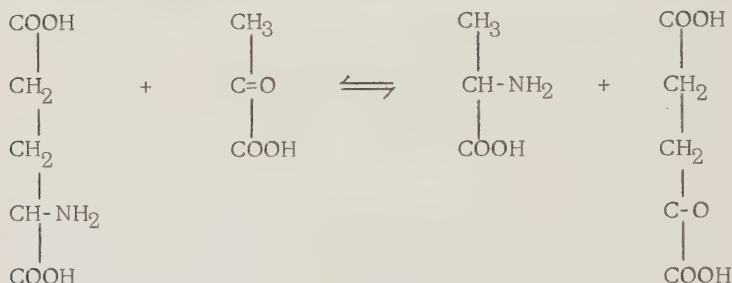
Es ist also bei Einsatz von 0,5 ml Serum:

$$\Delta E_{1 \text{ min}}^{340} \cdot 1000 \cdot 2 = \Delta E_{1 \text{ min}}^{366} \cdot 2000 \cdot 1,89 = \text{SGOT-Einheiten im Serum.}$$

b) Zur Bestimmung der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Die Glutamat-Pyruvat-Transaminase oder auch Glutamat-Brenztraubensäure-Transaminase katalysiert folgende Gleichgewichtsreaktion:

Glutaminsäure + Brenztraubensäure $\rightleftharpoons$ Alanin + Alpha-Ketoglutarinsäure.



Die Aktivität der GPT wird bei der von rechts nach links ablaufenden Reaktion durch Messung der zeitlichen Zunahme der Brenztraubensäure bestimmt. Auch diese wird in einer gekoppelten, durch Milchsäuredehydrogenase katalysierten Indikatorreaktion gemessen, bei der der DPN-H-Verbrauch proportional der gebildeten Menge an Brenztraubensäure und damit Meßgröße ist.

Reagentien.

Zur Bestimmung der SGPT wurden folgende Reagentien verwendet:

- 1) Primäres und sekundäres Kaliumphosphat zur Herstellung des Phosphatpuffers von pH 7,4.
- 2) d,1-Alanin als Natriumsalz.
- 3) Alpha-Ketoglutarinsäure in ihrem Natriumsalz.
- 4) Reduziertes Diphosphopyridinnukleotid (DPN-H).
- 5) Milchsäuredehydrogenase.

Fermentansatz.

In eine Cuvette werden 1,82 ml der gepufferten Alaninlösung gebracht, dazu 0,04 ml in Aqua bidest. gelöstes DPN-H, dann 0,04 ml Milchsäuredehydrogenase in einer Lösung von 0,25 mg Enzymprotein im ml und 1,0 ml Serum. Der Reaktionsablauf wird analog dem Vorgehen bei der

SGOT nach einer Vorinkubationszeit von 20 Minuten in einem Wasserbad von 25 Grad Celsius durch Zugabe von 0,1 ml Alpha-Ketoglutaräure in Gang gebracht und die Aktivitätsmessung wieder durch Bestimmung des Mittelwertes $\Delta E/\text{min.}$ der in regelmäßigen Zeitabständen abgelesenen Extinktionsabnahmen durchgeführt.

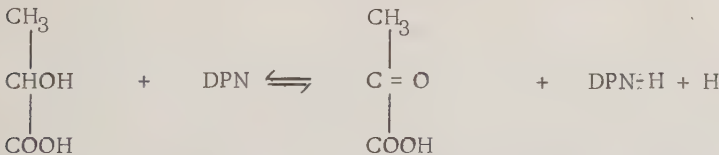
Berechnung.

Nach der Definition von WROBLEWSKI und LA DUE gilt wieder:

$$\Delta E_{1 \text{ min}}^{340} \cdot 1000 = \Delta E_{1 \text{ min}}^{366} \cdot 1890 = \text{SGPT-Einheiten im Serum.}$$

c) Zur Bestimmung der Milchsäuredehydrogenase-Aktivität

Das Ferment Milchsäuredehydrogenase (LDH) katalysiert in umkehrbarer Reaktion die Bildung von Milchsäure aus Brenztraubensäure.



Bei physiologischen pH-Werten liegt das Gleichgewicht der Reaktion fast ganz auf seiten der Milchsäure, da hierbei kinetisch die Hydrierung der Brenztraubensäure begünstigt ist. Zur Messung der Aktivität der LDH in biologischem Material verfolgt man den zeitlichen Umsatz von Brenztraubensäure und DPN-H, wovon DPN-H Meßgröße ist.

Reagentien.

Zur Bestimmung der LDH wurden folgende Reagentien verwendet:

- 1) Primäres und sekundäres Kaliumphosphat zur Herstellung des Puffers.
- 2) Brenztraubensäure in ihrem Natriumsalz.
- 3) Reduziertes Diphosphopyridinnukleotid (DPN-H).

Fermentansatz.

Nachdem Reaktionsgemisch und Serum im Wasserbad auf 25 Grad Celsius gebracht wurden, pipettiert man in die Cuvette 1,95 ml der phosphat-

gepufferten Brenztraubensäurelösung, sodann 0,05 ml des in Aqua bidest. gelösten DPN-H und 0,2 ml Serum. Die Reaktion kommt sofort in Gang, die Aktivität wird ebenfalls nach dem Mittelwert der in regelmäßigen Zeitabständen abgelesenen Extinktionsabnahmen gemessen.

Berechnung.

Die Definition der Enzymeinheit erfolgte hier nicht nach der im amerikanischen Schrifttum üblichen, sondern nach BÜCHER, und zwar ist die Enzymmenge, die bei 25 Grad Celsius die DPN-H-Extinktion bei 366 m μ in 100 sec. um 0,10 ändert (bezogen auf 1 ml und die 10 mm-Cuvette), also 0,03 μ Mol/ml oder 20,1 γ /ml DPN-H umsetzt, die Einheit der LDH.

Es ist folglich im 2,2 ml Ansatz mit 0,2 ml Serum für 60 sec.:

$$\frac{\Delta E^{366}}{0,100} \cdot \frac{100}{60} \cdot \frac{2,2}{0,2} = \Delta E^{366} \cdot 184 = \text{Einheiten/ml Serum.}$$

4) Zur statistischen Auswertung der erhaltenen Enzymaktivitäten

a) Die Bestimmung des arithmetischen Mittelwertes und der mittleren quadratischen Abweichung oder Standardabweichung

Bei Untersuchungen an biologischen Kollektiven, denen natürlicherweise eine gewisse Streuung zukommen muß, wird der "Normalbereich" der erhaltenen Meßwerte durch die Parameter arithmetischer Mittelwert und mittlere quadratische Abweichung (oder auch Standardabweichung) eindeutig festgelegt. Das Quadrat der Standardabweichung ist die mittlere quadratische Streuung (oder einfach Streuung).

Im folgenden verwandte Symbole:

Arithmetischer Mittelwert:	$\bar{x}$
Gesamtzahl der bestimmten Einzelwerte:	N
Summierungszeichen aller bestimmten Einzelwerte:	Su(x)
Standardabweichung:	S
Streuung:	s^2

Der Mittelwert $\bar{x}$ einer Stichprobe ist definiert als der Quotient aus der Summe aller Einzelwerte der Stichprobe Su(x), dividiert durch deren Gesamtzahl N.

$$\text{Also: } S = \sqrt{\frac{1}{N-1} \text{ Su}(x - \bar{x})^2}$$

$$\text{oder: } S = \sqrt{\frac{1}{N-1} \text{ Su}(x^2) - \bar{x} S(x)} .$$

b) Vergleich zweier Untersuchungsserien durch Prüfung der Signifikanz ihrer Mittelwerte nach der Nullhypothese

In dem sich hier stellenden statistischen Problem, nämlich dem Vergleich zweier Untersuchungsserien, bei denen nach einem eindeutigen Unterschied der erhaltenen Meßwerte gesucht wird, soll die Signifikanz der Unterschiede nach der sogenannten Nullhypothese geprüft werden. Ihre Fragestellung ist folgende: Wie groß ist die Wahrscheinlichkeit, daß die beobachtete Differenz zweier Mittelwerte nur dem Zufall zuzuschreiben ist, in anderen Worten, daß er nicht einem Nichtzufall (Null) zuzuschreiben ist. Ist die Wahrscheinlichkeit sehr klein, so ist der Nichtzufall der unter der Nullhypothese stehenden Untersuchungsserie bewiesen, wobei als Grenzwahrscheinlichkeit für Signifikanz 5% als genügend betrachtet werden können.

Zusätzlich verwandte Symbole:

Abweichung: t

Freiheitsgrad: n

Wahrscheinlichkeit: P

Standardabweichung der Mittelwertdifferenz: S_D

Die Standardabweichung der Mittelwertdifferenz S_D wird bestimmt, indem man zunächst aus beiden Versuchsreihen die gemeinsame Streuung berechnet. Diese ist:

$$S_{x, x'}^2 = \frac{\text{Su}(x^2) - \bar{x} \text{Su}(x) + \text{Su}(x'^2) - \bar{x}' \text{Su}(x')}{N + N' - 2}$$

Analog zu dem oben Gesagten ist die Standardabweichung der Mittelwertdifferenz kleinerer Stichproben:

$$\begin{aligned} S_D &= \sqrt{\frac{S_{x, x'}^2}{N} + \frac{S_{x, x'}^2}{N'}} \\ &= S_{x, x'} \sqrt{\frac{N + N'}{NN'}} \end{aligned}$$

Die Abweichung t , mit der man die Wahrscheinlichkeit P aus einer zur Verfügung stehenden Tabelle (FISHER und YATES) abliest, erhält man durch Division der Mittelwertdifferenz $(\bar{x} - \bar{x}')$ durch die Standardabweichung S_D der Mittelwertdifferenz.

Es ist also:
$$t = \frac{\bar{x} - \bar{x}'}{s_D}$$

Liegt die zu der Abweichung t bei einem bestimmten zu beachtenden Freiheitsgrad n die Wahrscheinlichkeit oberhalb 0,05 (wie schon gesagt, war als Grenzwahrscheinlichkeit für Signifikanz 5% angenommen worden), so kann die Differenz der Mittelwerte nur auf Zufall beruhen, die Werte der beiden Versuchsgruppen unterscheiden sich also nicht voneinander, liegt sie unterhalb 0,05, beweist sie einen nicht auf Zufall beruhenden Unterschied der zu vergleichenden Gruppen.

C) VERSUCHSERGEBNISSE

1) Das Verhalten der SGOT, der SGPT und der LDH bei Langzeitbelastungen von Versuchstieren mit D 860

a) Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT)

Die Bestimmung der SGOT-Werte bei den unbehandelten Kontrolltieren ergab erwartungsgemäß im Laufe der über 9 Monate dauernden Versuche keine wesentlichen Abweichungen. Es wurden je 4 Tiere nach einem Zeitraum von 1 Monat, nach 6 Monaten, 8 Monaten und nach 9 Monaten durch Dekapitation getötet und die SGOT aus dem erhaltenen Serum bestimmt. Die ermittelten Enzymwerte lagen zwischen 116,6 als niedrigster gemessener Einheit und einem Höchstwert von 246,8 Einheiten. Die Einzelwerte der durchgeführten 16 Bestimmungen sind im Anhang gesondert angeführt.

Für den arithmetischen Mittelwert ergab sich für die zwischen dem 6. und 9. Beobachtungsmonat bestimmten Stichproben der Leertiere:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{N} = \frac{2010}{12} = 167$$

Der arithmetische Mittelwert aller bestimmten Stichproben betrug bei den unbehandelten Kontrolltieren 167 SGOT-Einheiten.

Für die Standardabweichung ergab sich nach:

$$s = \sqrt{\frac{1}{N-1} (\sum x^2 - \bar{x} \sum x)}$$

$$\begin{aligned}
 S &= \sqrt{\frac{1}{12-1} (357228 - 167 \cdot 2010)} \\
 &= \sqrt{\frac{16558}{11}} \\
 &= \sqrt{1505} \\
 &= 38,8
 \end{aligned}$$

Die Standardabweichung betrug bei den unbehandelten Kontrolltieren für die SGOT 38,8.

Bei den sulfonylharnstoffbelasteten Versuchstieren zeichnete sich im Langzeitversuch eine mäßige Überhöhung der SGOT-Aktivitäten im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren ab. Die ermittelten Werte lagen nach 6 Monaten um mehr als 50% über den Normalwerten und blieben auch nach 8 und 9 Monaten im wesentlichen konstant. Unterschiede zwischen den mit 500 mg und den mit 1000 mg D 860/kg belasteten Tierkollektive waren nicht zu erkennen.

Kurve I zeigt einen Vergleich der mit D 860 belasteten Versuchstiere gegenüber den unbehandelten Kontrolltieren. Die Kurve folgt den Abgrenzungen des Normalbereichs, welcher durch die Parameter arithmetischer Mittelwert und Standardabweichung bestimmt ist. Die Abgrenzung dieses Bereichs beruht auf der Theorie der Normalverteilung. Nach dieser ist - zumindest für die Biologie - bei einem normal verteilten Kollektiv innerhalb des Bereiches Mittelwert $\pm 2 \cdot$ Standardabweichung jede normale Variation mit einer Sicherheit von 95,5% zu erwarten. In der Kurve sind die beiden mit 500 bzw. mit 1000 mg/kg belasteten Versuchsgruppen zusammengefaßt. Die Standardabweichung wurde aus den zusammengefaßten, zwischen dem 6. und 9. Belastungsmonat angestellten Enzymbestimmungen errechnet.

Der arithmetische Mittelwert aller über 6 bis 9 Monate bestimmten Stichproben der D 860-belasteten Versuchstiere ergab sich wiederum nach:

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{N} = \frac{5460}{19} = 287 \text{ SGOT-Einheiten}$$

Für die Standardabweichung ergab sich bei $\sum x = 5460$, $\sum x^2 = 1806300$, $\bar{x} = 287$, $N = 19$ nach der bekannten Formel:

$$\begin{aligned}
 S &= \sqrt{\frac{1}{19-1} (1806300 - 287 \cdot 5460)} & S &= 115
 \end{aligned}$$

Die SGOT-Aktivität der über 6 bis 9 Monate mit D 860 belasteten Versuchstiere lag also bei einem Mittelwert von 287 Einheiten bei einer Standardabweichung von 115.

Um den sich in Kurve I abzeichnenden Unterschied der SGOT-Aktivitäten zwischen Kontrolltieren und sulfonylharnstoffbelastetem Kollektiv zu erhärten, wurden beide Untersuchungsreihen durch statistische Prüfung der Signifikanz ihrer Mittelwerte nach der Nullhypothese verglichen.

Die gemessenen Stichproben hatten für die hier verwendeten Symbole folgende Werte ergeben (wie schon gesagt, finden sich sämtliche Einzelwerte der Untersuchungsreihe im Anhang):

Kontrolltiere:

Arithmetischer Mittelwert:	$\bar{x} = 167$
Gesamtzahl der Einzelwerte:	$N = 12$
Summe aller Einzelwerte:	$Su(x) = 2010$
Standardabweichung:	$S = 38,8$

Sulfonylharnstoffbelastetes Tierkollektiv:

Arithmetischer Mittelwert:	$\bar{x}' = 287$
Gesamtzahl der Einzelwerte:	$N' = 19$
Summe aller Einzelwerte:	$Su(x') = 5460$
Standardabweichung:	$S = 115$

Wie oben schon gesagt, erhält man die Abweichung t, mit der man die Wahrscheinlichkeit P tabellarisch ermittelt, durch Division der Mittelwertdifferenz durch die Standardabweichung der Mittelwertdifferenz.

Die Standardabweichung der Mittelwertdifferenz wird bestimmt, indem man zunächst aus beiden Versuchsreihen die gemeinsame Streuung berechnet.

Diese ist:

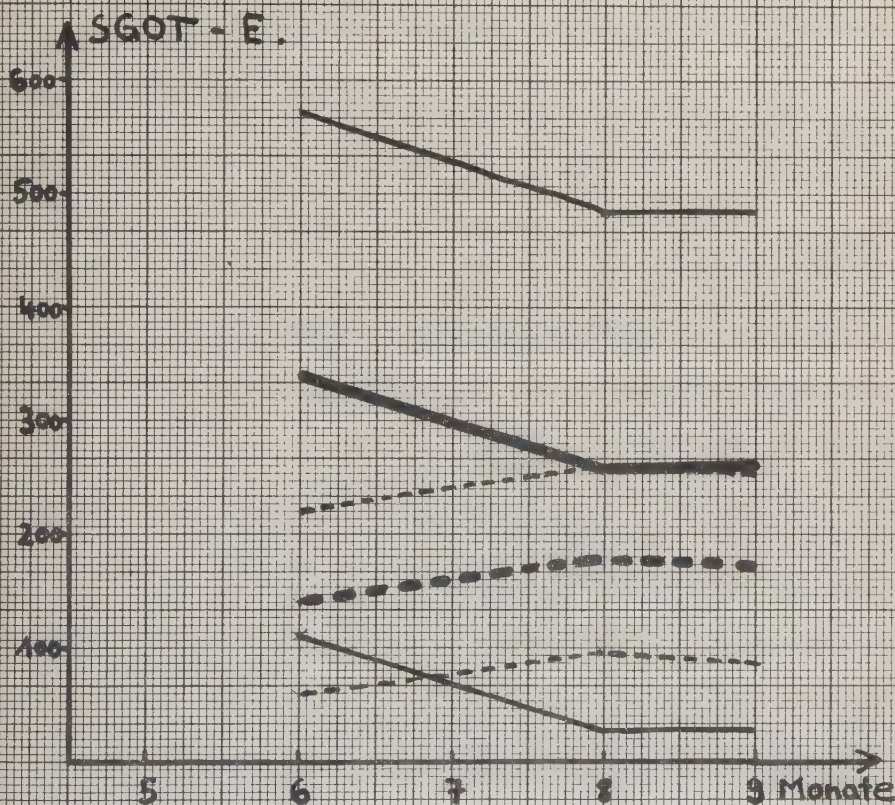
$$S_{x, x'}^2 = \frac{Su(x^2) - \bar{x}Su(x) + Su(x'^2) - \bar{x}'Su(x')}{N + N' - 2}$$

Für die hier ermittelten Stichproben ergibt sich demnach:

$$\begin{aligned} S_{x, x'}^2 &= \frac{357228 - 167 \cdot 2010 + 1806300 - 287 \cdot 5460}{12 + 19 - 2} \\ &= \frac{260838}{29} \\ &= 8959 \end{aligned}$$

Kurve I.

Das Verhalten der SGOT-Aktivitäten bei mit D 860 belasteten Versuchstieren im Vergleich zu einem unbehandelten Kontrollkollektiv.

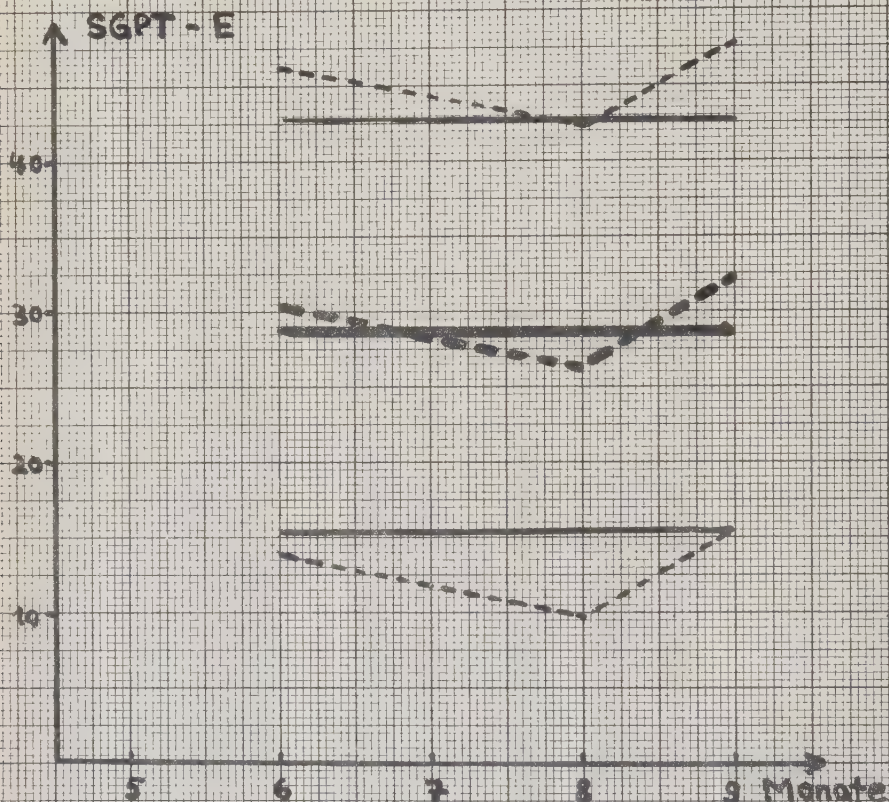


- Arithm. Mittelwerte der SGOT-Aktivitäten für die mit D 860 belasteten Versuchsgruppen
- Abgrenzung des Normalbereichs mittels der für die Standardabweichung errechneten Werte
- Arithm. Mittelwerte der SGOT-Aktivitäten bei den unbehandelten Kontrolltieren
- Abgrenzung des Normalbereichs mittels der für die Standardabweichung errechneten Werte.

(Einzelwerte siehe Tabelle I im Anhang)

Kurve II.

Das Verhalten der SGPT-Aktivitäten bei mit D 860 belasteten Versuchstieren im Vergleich zu einem unbehandelten Kontrollkollektiv.



- Arithm. Mittelwerte der SGPT-Aktivitäten für die mit D 860 belasteten Versuchstiergruppen.
- Abgrenzung des Normalbereichs mittels der für die Standardabweichung errechneten Werte.
- - - - - Arithm. Mittelwerte der SGPT-Aktivitäten bei den unbehandelten Kontrolltieren.
- - - - - Abgrenzung des Normalbereichs der für die Standardabweichung errechneten Werte.

(Einzelwerte siehe Tabelle I im Anhang)

Analog zu dem früher Gesagten ist nun die Standardabweichung der Mittelwertdifferenz kleinerer Stichproben:

$$\begin{aligned} S_D &= S_{x, x'} \sqrt{\frac{N + N'}{N N'}} \\ &= \sqrt{8959} \cdot \sqrt{\frac{31}{228}} \\ &= 94,6 \cdot 0,37 \\ &= 30,80 \end{aligned}$$

Für die Abweichung t gilt gemäß:

$$\begin{aligned} t &= \frac{\bar{x} - \bar{x}'}{S_D} \\ &= \frac{287 - 167}{30,8} \\ &= 4 \end{aligned}$$

Bei einem Freiheitsgrad von $n = 29$ liegt für die Abweichung $t = 4$ die Wahrscheinlichkeit noch unterhalb 0,001. Da als Grenzwahrscheinlichkeit für Signifikanz 5% als genügend angesehen werden, besagt dies, daß sich im vorliegenden Fall die Differenz der Mittelwerte der erhaltenen SGOT-Stichproben in den beiden Versuchskollektiven signifikant von Null unterscheidet. Es ist also kein Zufall, daß die Werte der einen Gruppe höher liegen als die der anderen.

Demzufolge kann man konstatieren: Bei einer Langzeitbelastung mit D 860 in der Dosierung von 500 bzw. 1000 mg/kg über 6 bis 9 Monate kommt es zu einer Erhöhung der SGOT-Aktivitäten im Serum von Albinoratten.

b) Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT)

Auch die gleichzeitig mit den SGOT-Untersuchungen durchgeführte Bestimmung der SGPT über einen Zeitraum von 9 Monaten ergab bei den unbehandelten Kontrolltieren keine eklatanten Abweichungen. Der niedrigste gemessene Einzelwert betrug 14,5 SGPT-Einheiten, der höchste 40,4. Das arithmetische Mittel errechnete sich für die Leerwerte der drei letzten Versuchsgruppen (6. bis 9. Monat) auf 29,7 E., für die Standardabweichung ergab sich ein Wert von 8,2. Bei einem normalverteilten Kollektiv sind also inner-

halb des Bereiches Mittelwert $+ 2$ mal $8,2$, hier also zwischen $29,7 - 16,4 = 13,3$ und zwischen $29,7 + 16,4 = 46,1$ die Stichwerte zu suchen.

Bei den sulfonylharnstoffbelasteten Tierkollektiven zeigten sich hier keine nennenswerten Abweichungen der SGPT-Aktivitäten von denen der unbehandelten Kontrolltiergruppen. Die Einzelwerte der zwischen dem 1. und 9. Monat gewonnenen Stichproben lagen zwischen $12,57$ und $35,7$ E. Das arithmetische Mittel für die über 6 bis 9 Monate mit D 860 belasteten Versuchstiere betrug $29,6$ E. (wobei die Mittelwerte der beiden mit 500 bzw. 1000 mg D 860 belasteten Tiere nur geringfügig differierten). Für die Standardabweichung errechnete sich $6,7$. Bei dem normal verteilten Kollektiv sind also in dem Bereich zwischen $29,6 - 13,4 = 16,2$ und $29,6 + 13,4 = 43,0$ die Stichprobenwerte zu erwarten.

Die Prüfung der Signifikanz der Mittelwertdifferenz ergab, wie die obige Übersicht schon erwarten läßt, bei einer Standardabweichung der Mittelwertdifferenz S_D von $2,40$ eine Abweichung t von $0,04$, für die die dazugehörige Wahrscheinlichkeit P zwischen $0,9$ und $1,0$ liegt. Dies besagt nach dem oben genauer Aufgeführten, daß eine möglicherweise gemessene Abweichung der SGPT-Aktivität zwischen den beiden Versuchsgruppen mit großer Wahrscheinlichkeit auf Zufall beruht.

Die Untersuchungen führten also zu dem Ergebnis, daß eine Einwirkung von D 860 in der bekannten Dosierung und Zeitdauer auf die Aktivität der SGPT bei den gewählten Versuchstieren nicht zu erwarten ist.

Kurve II zeigt die wiederum durch arithmetischen Mittelwert und Standardabweichung markierten Normalbereiche.

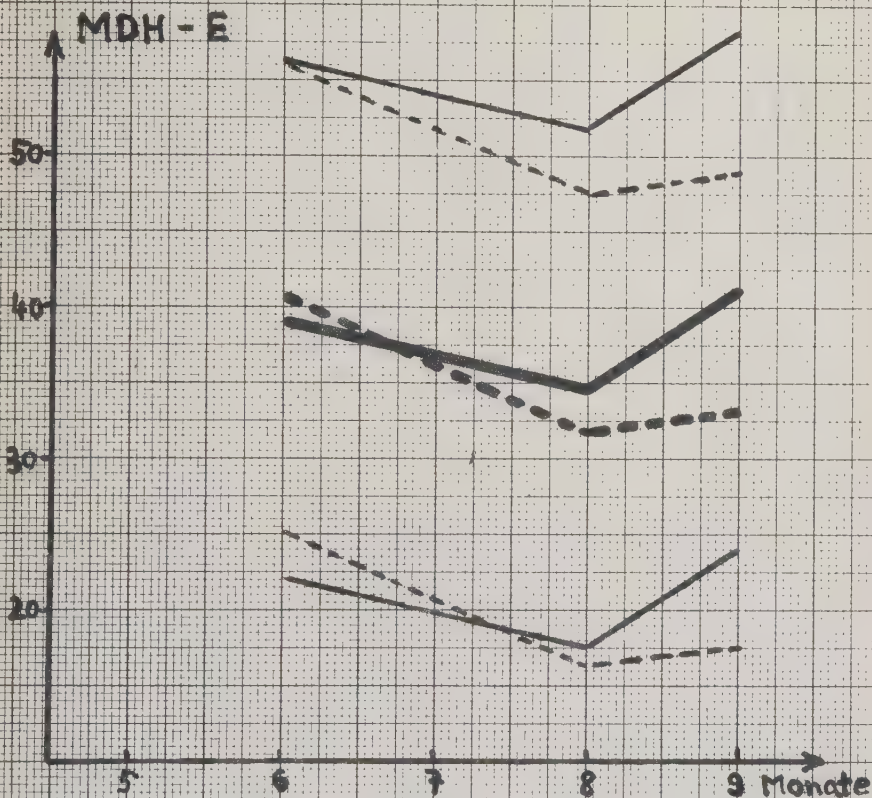
c) MILCHSÄUREHYDROGENASE (LDH)

Die ermittelten Enzymwerte der Milchsäuredehydrogenase im Serum der unbehandelten Kontrolltiere lagen zwischen $28,0$ und $61,3$ E., die bei den einzelnen Versuchsgruppen erhaltenen Mittelwerte zwischen $32,0$ und $40,6$ E. Es fanden sich im Laufe der über 9 Monate durchgeführten Untersuchungen keine wesentlichen Abweichungen. Für die zwischen dem 6. und 9. Monat bestimmten Stichproben betrug das arithmetische Mittel $35,5$ E., die errechnete mittlere quadratische Abweichung $7,8$.

Auch bei den LDH-Messungen zeigten die unter Sulfonylharnstoffbelastung stehenden Versuchstiere im Vergleich zu den Leertieren keine signifikanten Aberrationen, die Einzelwerte lagen zwischen $22,6$ und $45,0$ E. Das arith-

Kurve III.

Das Verhalten der LDH-Aktivitäten im Serum von mit D 860 belasteten Versuchstieren im Vergleich zu einem unbehandelten Kontrollkollektiv.



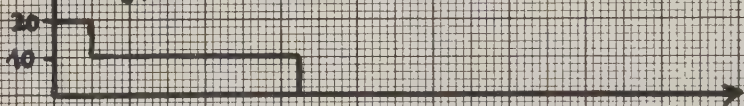
- Aritim. Mittelwerte der LDH-Aktivitäten für die mit D 860 belasteten Versuchsgruppen.
- Abgrenzung des Normalbereichs mittels der für die Standardabweichung errechneten Werte.
- Aritim. Mittelwerte der LDH-Aktivitäten bei den unbehandelten Kontrolltieren.
- Abgrenzung des Normalbereichs mittels der für die Standardabweichung errechneten Werte.

(Einzelwerte siehe Tabelle I im Anhang)

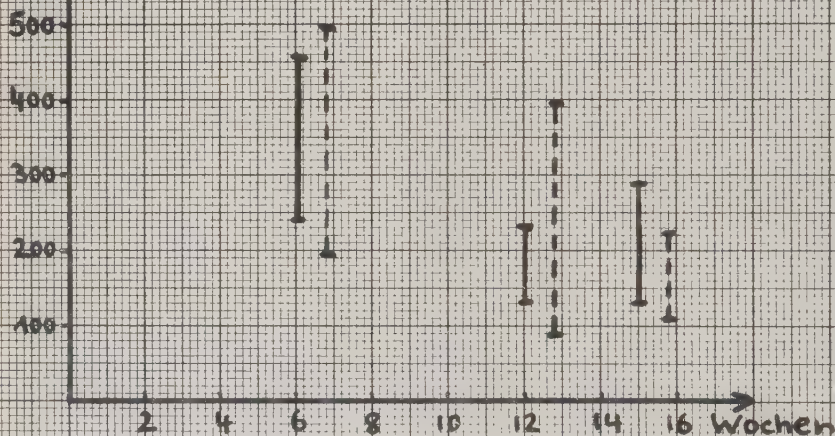
Kurve IV.

Das Verhalten der SGOT-Aktivitäten bei Versuchstieren unter artifizieller Leberschädigung

mg/die Thioacetamid



SGOT-E.

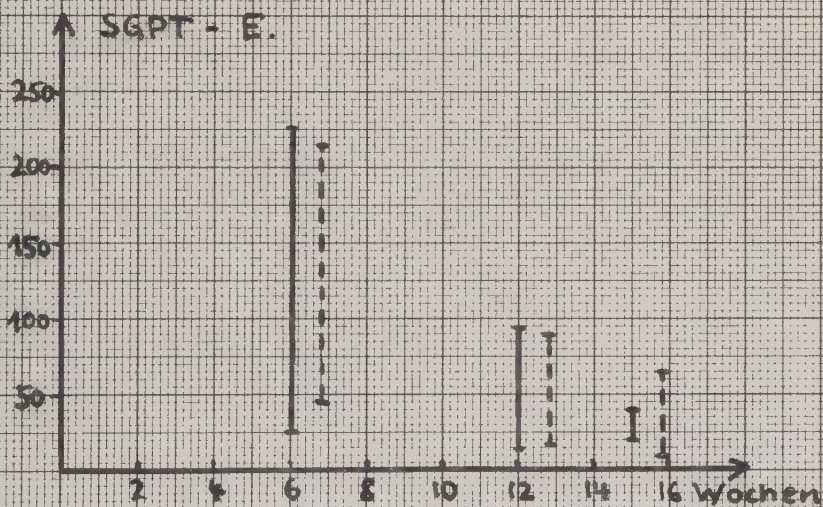
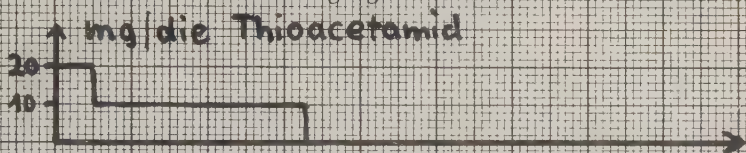


— Jeweiliger "Normalbereich" für die SGOT-Aktivitäten des zusätzlich mit D 860 behandelten Tierkollektivs

- - - Jeweiliger "Normalbereich" für die SGOT-Aktivitäten des ohne zusätzliche Behandlung belassenen Tierkollektivs

Kurve V.

Das Verhalten der SGPT-Aktivitäten bei Versuchstieren unter
artefizieller Leberschädigung.

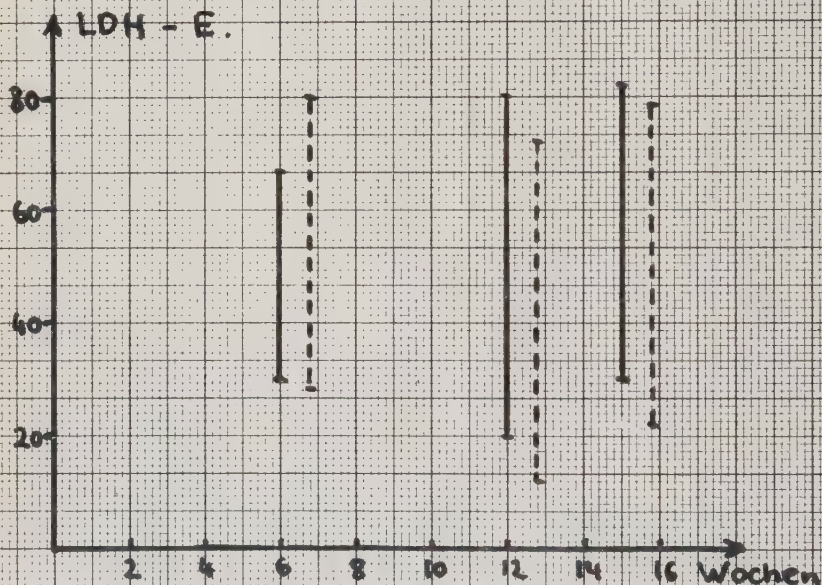
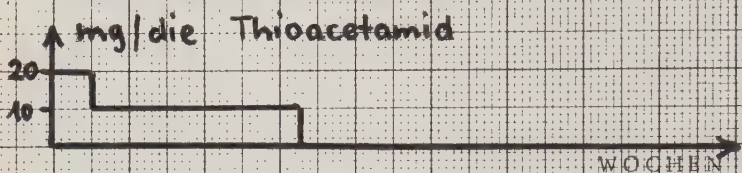


— Jeweiliger "Normalbereich" für die SGPT-Aktivitäten des
zusätzlich mit D 860 behandelten Tierkollektivs.

- - - Jeweiliger "Normalbereich" für die SGPT-Aktivitäten des
ohne zusätzliche Behandlung belassenen Tierkollektivs.

Kurve VI.

Das Verhalten der Milchsäuredehydrogenase im Serum von Versuchstieren unter artifizeller Leberschädigung.



Jeweiliger "Normalbereich" für die LDH-Aktivitäten des zusätzlich mit D 360 behandelten Tierkollektivs.



Jeweiliger "Normalbereich" für die LDH-Aktivitäten des ohne zusätzliche Behandlung belassenen Tierkollektivs.

metische Mittel für die nach dem 6. Monat der Sulfonylharnstoffbelastung ermittelten 19 Stichproben betrug 37,4, die mittlere quadratische Abweichung 8,5.

Bei der Prüfung der Signifikanz der Mittelwertdifferenz ergab sich ein Wahrscheinlichkeitswert zwischen 0,7 und 0,8 (bei einer Standardabweichung der Mittelwertdifferenz von 8,7 und einer Abweichung von 0,32), was wiederum besagt, daß eine möglicherweise gemessene Abweichung der LDH-Aktivität zwischen belastetem und unbelastetem Tierkollektiv mit großer Wahrscheinlichkeit auf Zufall beruht.

Nach diesen Ergebnissen ist keine Einflußnahme von Langzeitbelastungen mit D 860 auf die Aktivität der Milchsäuredehydrogenase im Serum zu konstatieren.

Zusammenfassend kann man gemäß den erhaltenen Daten für die Enzymuntersuchungen bei sulfonylharnstoffbelasteten Versuchstieren aussagen: Bei Langzeitbelastungen von Albinoratten über 6 bis 9 Monate mit täglichen Gaben von 500 bzw. 1000 mg D 860 pro kg Körpergewicht kommt es zu einem Anstieg der Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, dagegen zu keiner wesentlichen Veränderung der Fermentaktivitäten der Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase und der Serum-Milchsäuredehydrogenase.

2) Einwirkungen von D 860 auf die Serumenzymaktivitäten artefiziell lebergeschädigter Versuchstiere

a) Serum-Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (SGOT)

Unter der Einwirkung der über 6 1/2 Wochen durchgeführten täglichen Thioacetamidgaben, die, wie in gleichzeitigen histologischen Verlaufskontrollen an Leberschnitten gezeigt werden konnte, zu einer massiven Leberzellschädigung mit dem Bild einer beginnenden Leberzirrhose führten, kam es zu einer schädigungsgemäßen Erhöhung der SGOT. Die im Anschluß an die Thioacetamid-schädigung durchgeführten Enzymbestimmungen zeigten ein arithmetisches Mittel von 340 SGOT-Einheiten, die Standardabweichung errechnete sich auf $S = 74$. Der "Normalbereich" der SGOT-Aktivitäten für die thioacetamidgeschädigten Versuchstiere ist nach der Theorie der Normalverteilung (Normalbereich = $\bar{x} \pm 2 \cdot S$) also zwischen 192 und 488 SGOT-E. zu erwarten.

Nach Absetzen der schädigenden Noxe zeigten die Enzymaktivitäten wieder fallende Tendenz. Die 6 Wochen nach der Thioacetamidschädigung ermittelten Aktivitäten ergaben einen Mittelwert von 213 E. (bei einer Standardabweichung von 68), die nach 8 1/2 Wochen bestimmten Werte ein arithmetisches Mittel von 174 E. (bei einer Standardabweichung von 24).

Für das zusätzlich mit D 860 behandelte Tierkollektiv wurden folgende Werte ermittelt: Das Mittel der sofort im Anschluß an die Thioacetamidschädigung bestimmten SGOT-Werte betrug 351, die mittlere quadratische Abweichung 58. 6 Wochen nach Absetzen der Noxe ergab sich ein Mittelwert von 184 E. (bei einer Standardabweichung von 24), nach 8 1/2 Wochen betrug das arithmetische Mittel der erhaltenen Stichproben 212 SGOT-E., die Standardabweichung hierfür 42.

Die graphische Darstellung (Kurve III) gibt einen Vergleich der beiden mit Thioacetamid geschädigten Tierkollektive. Es sind die jeweils nach 6 1/2 Wochen, nach 12 1/2 und nach 15 Wochen erhaltenen "Normalbereiche" der gemessenen SGOT-Aktivitäten einmal für die zusätzlich mit D 860 behandelte, zum anderen für die ohne zusätzliche Medikation belassene Versuchsgruppe eingezeichnet.

Wie die graphische Darstellung zeigt, fanden sich beim Vergleich der zusätzlich mit D 860 behandelten Versuchsgruppen mit den unbehandelten Tieren keine wesentlichen Abweichungen. Der statistische Beweis wurde wiederum mittels der Prüfung der Signifikanz der Mittelwertdifferenz nach der Nullhypothese erbracht. Es ergab sich bei einer Standardabweichung der Mittelwertdifferenz $S_D = 49$ und einer Abweichung $t =$ kleiner als 0,1 für den Freiheitsgrad $n = 46$ eine Wahrscheinlichkeit $P =$ größer als 0,9, was besagt, daß eine möglicherweise gemessene Abweichung einzelner SGOT-Stichproben zwischen behandeltem und unbehandeltem Tierkollektiv mit großer Wahrscheinlichkeit auf Zufall beruht.

Nach langfristigen Thioacetamidbelastungen weisen demnach die SGOT-Veränderungen der geschädigten Versuchsgruppen keinen faßbaren Unterschied zwischen den koinzident sulfonylharnstoffbehandelten und den ohne zusätzliche Medikation belassenen Tieren auf.

b) Serum-Glutamat-Pyruvat-Transaminase (SGPT)

Die parallel zu den SGOT-Messungen durchgeführten Bestimmungen der SGPT-Aktivitäten zeigten ein im wesentlichen gleichsinniges Verhalten. Die im An-

schluß an die 6 1/2-wöchige Thioacetamidschädigung erhaltenen Enzymwerte zeigten ebenfalls eine schädigungsgemäße Erhöhung. Die Einzelwerte der zusätzlich mit D 860 behandelten Versuchstiere lagen zwischen 62,9 E. und 233,4 E., die der Kontrolltiere zwischen 66,2 und 216,5 E. Das arithmetische Mittel betrug für die erste Gruppe 125 E. bei einer mittleren quadratischen Abweichung von 52, das der zweiten Gruppe 131 E. bei einer Standardabweichung von 45.

Die 6 Wochen nach Absetzen der Thioacetamidschädigung bestimmten Enzymwerte zeigten wieder fallende Tendenz. Die Einzelwerte der mit D 860 behandelten Versuchsgruppe lagen zwischen 25,1 und 72,8 E., ihr arithmetisches Mittel betrug 40,5 E., die Standardabweichung 19. Die Einzelwerte der ohne zusätzliche Behandlung belassenen Tiere lagen zwischen 21,2 und 58,2 E., ihr arithmetisches Mittel betrug 41,5 E., die mittlere quadratische Abweichung 17. Die nach 8 1/2 Wochen ermittelten SGPT-Aktivitäten zeigten für die erstere Gruppe Werte zwischen 21,2 und 41,0 E. (Mittelwert 30,6 E Standardabweichung 6), für die Kontrollgruppe Einzelwerte zwischen 18,5 und 61,2 E. (arithmetisches Mittel 32,4 E., Standardabweichung 14).

In der graphischen Darstellung (Kurve IV) sind wieder die jeweils zu den angegebenen Zeitpunkten durch arithmetisches Mittel und Standardabweichung bestimmten Normalbereiche der mit D 860 behandelten und der unbehandelten Tierkollektive gegenübergestellt.

Auch hier gab die Prüfung der Signifikanz der Mittelwertdifferenz - wie die graphische Darstellung bereits erkennen läßt - keinen Beweis für sichere Abweichungen der SGPT-Aktivitäten beider Versuchskollektive, eine Beeinflussung der thioacetamidgeschädigten Versuchstiere durch zusätzliche Gaben von D 860 war hinsichtlich des Verhaltens der SGPT nicht zu konstatieren.

c) Serum-Milchsäuredehydrogenase

Die in früheren Versuchen bestimmten LDH-Aktivitäten unbehandelter Versuchstiere, die also für Normalwerte gelten können, lagen bei einem Mittel von 35 E. In der vorliegenden Versuchsreihe kam es nach 6 1/2-wöchiger Thiacetamidschädigung zu einem mäßigen Anstieg der Enzymwerte. Das Mittel der zusätzlich mit D 860 behandelten Stichproben betrug 47 E. (Standardabweichung = 9), das Mittel der unbehandelten Kontrolltiere 56,9 E. (Standardabweichung = 14). Nach Sistieren der schädigenden Noxe wurde im Gegensatz zu den Befunden bei der SGOT- und SGPT-Bestimmung das

erreichte Niveau ohne wesentliche Schwankungen beibehalten. Nach 6 Wochen wurden als Mittelwerte 50,7 E. (Standardabweichung = 17), bzw. 42,2 E. (Standardabweichung = 15) gemessen, nach 8 1/2 Wochen 56,0 E. (Standardabweichung = 13), bzw. 49,0 E. (Standardabweichung = 14). Eine differierende Verhaltensweise beider Versuchskollektive ließ sich jedoch auch hier nicht erkennen.

Zusammenfassend läßt sich konstatieren, daß bei der nach oben beschriebenen Modus durchgeführten Thioacetamidbelastung ein schädigungsgemäßes Verhalten der bestimmten Transaminasen sowie der Milchsäuredehydrogenase im Serum der verwendeten Versuchstiere zu beobachten war, daß eine zusätzliche Behandlung mit D 860 jedoch nicht zu einer meßbaren Beeinflussung der genannten Enzymaktivitäten geführt hat.

VI. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse scheinen zunächst einige kritische Einschränkungen angezeigt, welche die Bewertung der erhaltenen Befunde mit gewissen Vorbehalten belasten.

Die Versuchsanordnung brachte es mit sich, daß bei jedem Tier aus den verschiedenen Belastungskollektiven nur eine einmalige Parallelbestimmung der Fermente SGOT, SGPT und LDH durchgeführt werden konnte, so daß eine echte Verlaufsbeobachtung der Beeinflussung der Serumenzyme am selben Tier nicht möglich war. Dieser Umstand ist vor allem dadurch bedingt, daß für die enzymatischen Bestimmungen relativ große Serumengen benötigt werden, die in vivo nicht zu gewinnen sind. Die Tatsache jedoch, daß die Versuchskollektive umfangreich genug waren und sämtliche Tiere unter gleichen Bedingungen gehalten wurden, läßt erwarten, daß die zu verschiedenem Zeitpunkt ermittelten Stichproben zu einer echten Mittelwertbildung geführt haben, zumal in Vorversuchen gezeigt werden konnte, daß wesentliche individuelle Abweichungen, die einer Berücksichtigung wert gewesen wären, nicht bestanden.

Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, daß erfahrungsgemäß langfristige Belastungsversuche, welche über viele Monate laufen, Schädigungen oder exogene Beeinflussungen irgendwelcher Art mit sich bringen können, unter

deren Einwirkung es zu Alterationen der hepatischen Enzymaktivitäten kommen kann, die den Wert einer jeden, auf der Zusammenfassung von Stichproben beruhenden Bestimmung mindern. Durch anhaltende Verlaufskontrollen und quantitativ ausreichende Versuchsgruppen dürften die genannten Möglichkeiten einer Fehlwertbildung ausgeschaltet bzw. auf einen minimalen Maßstab reduziert worden sein.

Bei Überblick auf die gewonnenen Ergebnisse scheint im Verhalten der untersuchten Fermente unter Langzeitbelastung mit Sulfonylharnstoffderivaten einerseits eine Aktivierung einzelner Serumenzyme erkennbar, während sich bei anderen keine Alterationen ergeben. Die von Voruntersuchern durchgeführten Studien über die verschiedenen, durch Sulfonylharnstoffgaben beeinflussten Intermediärenzyme des Kohlenhydratstoffwechsels sind bereits bei der Einführung der Problematik besprochen worden. Bei den Voruntersuchungen hatten sich Veränderungen sowohl im Sinne der Aktivierung als auch der Inhibition des fermentativen Apparats ergeben, z. T. ließen sich keinerlei Beeinflussungen nachweisen. Die in den vorliegenden Untersuchungen enthaltenen Daten über das Verhalten der LDH entsprechen den Ergebnissen anderer Untersucher (STEIGERWALD, BÖHLE, SCHÖFFLING und PFEIFFER). Umfassende Versuchsreihen mit SGPT-Bestimmungen bei tierexperimentellen Versuchsanordnungen sind bisher nicht publiziert worden. Die aktivierende Einwirkung von D 860 auf die Serum-Glutamat-Oxalat-Transaminase, wie sie bei den von uns erhaltenen tierexperimentellen Untersuchungen beobachtet wurde, wurde in der Literatur noch nicht beschrieben. Andere Untersucher haben eine solche Erhöhung zumindest bei Gesunden nicht konstatiert (STEIGERWALD, BÖHLE, SCHÖFFLING und PFEIFFER). Allerdings hat es sich bei den genannten Voruntersuchungen jeweils nur um kurzfristige, über wenige Stunden dauernde D 860-Belastungen gehandelt.

Über die Art, in welcher Sulfonylharnstoffderivate auf die verschiedenen Fermentaktivitäten einwirken, läßt sich auch auf Grund der vorstehenden Untersuchungen nichts Verbindliches aussagen. Die Tatsache, daß letztlich weder der Wirkungsmechanismus der Arylsulfonylbutylharnstoff-Verbindungen geklärt ist noch daß über die einzelnen Fermente und ihre Struktur eingehende Kenntnisse vorliegen, die Fermentaktivitäten überhaupt nur durch Messung des spezifischen Substratumsatzes zu bestimmen sind, läßt den Versuch einer Deutung der gesamten Problematik verfrüht erscheinen. Wir kommen zu der Auffassung, daß die beobachtete Erhöhung der Enzymaktivität bei der SGOT nach Belastung mit D 860 nicht als Folge einer Leberzellschädigung anzusehen ist. Ganz abgesehen von der Tatsache, daß Enzym-Alterationen

der diskutierten Fermente - bei aller Würdigung der differentialdiagnostischen Bedeutung, die sie für die Diagnose von Erkrankungen enzymreicher Organe, vor allem der Leber und des Herzens, aber auch der Muskulatur erlangt haben - keineswegs absolut spezifisch sind, sprechen die im folgenden aufgeführten Befunde gegen eine als Schädigungsfolge aufzufassende Beeinflussung des Fermentstoffwechsels durch Sulfonylharnstoffderivate:

Eine Erhöhung der SGOT-Aktivität wurde unter D 860 zwar einhellig konstatiert, sie ist jedoch so gering, daß man sich scheut, sie als Symptom einer pathologischen Änderung der Organfunktion anzusehen. Jedenfalls ist sie nicht zu vergleichen mit Werten, wie man sie bei Erkrankungen der Leber findet. Allerdings ist diese Erwägung nicht unbedingt stichhaltig, denn die Tatsache, daß eine gemessene Veränderung eines enzymatischen Wertes noch im statistischen Normalbereich liegt, schließt nicht aus, daß sie trotzdem Folge einer, wenn auch heringgradigen, pathologischen Noxe sein kann. Andererseits hätte man jedoch im Falle einer eingreifenden Schädigung unbedingt und in noch ausgeprägterem Maße synchrone Veränderungen auch der SGPT-Aktivitäten unter Sulfonylharnstoffbelastung erwarten müssen, weil der SGPT eine noch größere Organspezifität in bezug auf das Leberparenchym zugesprochen wird.

Nach den aus den vorliegenden Untersuchungen gewonnenen Daten kann somit nur ausgesagt werden, daß eine Beeinflussung der SGOT-Aktivitäten durch Langzeitbelastung mit Sulfonylharnstoffderivaten möglich ist, eine alterierende Einwirkung auf die SGPT- und LDH-Aktivität offensichtlich nicht vorliegt und daß die Steigerung der SGOT-Aktivität höchstwahrscheinlich nicht als Folge einer Leberparenchymschädigung anzusehen ist. Man möchte sie eher als Folge einer unmittelbaren Beeinflussung, möglicherweise als Ausdruck einer Veränderung im Rahmen komplexer, untereinander in einem biologischen Gleichgewicht stehender, an dem hypoglykämisierenden Sulfonylharnstoffeffekt beteiligter Stoffwechselfaktoren und Enzymspektren erklärt wissen.

Von der zweiten Versuchsreihe sollten Aufschlüsse erwartet werden über einen eventuellen schädigenden Einfluß der Sulfonylharnstoffderivate bei vorgeschädigter Leber oder über mögliche leberprotektive Eigenschaften dieser Substanzen.

Über die Zeitdauer der hepatotoxischen Thioacetamidgaben fand sich jeweils ein schädigungsgemäßer Anstieg der untersuchten Fermentaktivitäten. Ein abweichendes Verhalten der zusätzlich mit D 860 behandelten Versuchsgruppen von den ohne Medikation belassenen Tieren wurde nicht beobachtet. Nach

Sistieren der Thioacetamidschädigung zeigten die untersuchten Enzymaktivitäten bei noch nachhaltig faßbarer histologischer Leberschädigung mit konsekutivem zirrhotischem Umbau bereits nach relativ kurzer Zeit eine deutliche Normalisierungstendenz, sowohl bei den mit D 860 belasteten als auch den unbehandelten Versuchskollektiven. Die Neigung zur beobachteten, schnell progredienten Normalisierung der Enzymwerte mag einerseits mit der bekannten hohen Regenerationsfähigkeit der Rattenleber zusammenhängen, zum anderen war mit Absetzen des schädigenden Agens ein Übergang des histopathologischen Prozesses aus einem subakuten in ein Stadium von nur geringer Prozeßaktivität zu erwarten. Damit ist jedoch, wie auch die Klinik der chronischen Lebererkrankungen zeigt, zumeist eine nur mäßig oder gering gesteigerte Fermentaktivität verbunden. Allerdings ist ein solcher Schluß nur mit der Einschränkung erlaubt, daß ein Vergleich von tierexperimentellem Befund mit ähnlichen Situationen der Humanpathologie nur mit größten Vorbehalten gestattet ist und letztlich hinweisende Analogieschlüsse erlaubt. Eine Intensivierung der experimentellen Leberschädigung durch die verabreichten Sulfonylharnstoffderivate konnte anhand der Fermentuntersuchungen nicht objektiviert werden. Die erhobenen Befunde entsprechen einerseits histologischen Untersuchungen im Tierexperiment unter ähnlichen Versuchsmodellsituationen, wie sie kürzlich von KNICK und RUCKES und von GEORGII und MEHNERT mitgeteilt wurden. Andererseits wollen letztere nach monatelangen artefiziellen Leberschädigungen unter gleichzeitiger Medikation von Sulfonylharnstoffpräparaten eine Verschiebung der Resultate mit Beschleunigung der Manifestation zirrhotischer Leberveränderungen gesehen haben. Die Erfahrungen der klinischen Medizin mit einem Überblick über nunmehr fast 6 Jahre Therapie mit Sulfonylharnstoffderivaten sprechen vor allem dafür, daß Substanzen der Sulfonylharnstoffreihe von sich aus keine leberschädigende Wirkung entfalten und auch bei vorgeschädigter Leber keine Belastung des Stoffwechsels darstellen oder Intensivierungen eines Leberschadens hervorrufen.

Ein Beweis dafür, daß durch Sulfonylharnstoffe die Versuchstiere vor experimentell erzeugten Leberschäden geschützt sind, daß also die Verabreichung von D 860 bei Leberschäden ein therapeutisches Agens darstellen könnte, wie dies vielfach diskutiert wurde, konnte im Zuge der vorgelegten experimentellen Studien nicht erbracht werden, zumal auch ein schlüssiger Beweis für die Auffassung, daß eine selektive Glykogenanreicherung der Leber ein therapeutisches Moment darstellt, nicht vorliegt.

Die erhaltenen Untersuchungsergebnisse stehen jedoch im Einklang mit allen bisher erhobenen klinischen und experimentellen Befunden, die belegen, daß

durch Sulfonylharnstoffderivate weder eine primäre Leberschädigung noch eine Intensivierung vorbestehender Leberschäden zu erwarten ist.

Soweit von tierexperimentellen Untersuchungen ausgehend überhaupt ein Rückschluß auf die praktisch-klinische Anwendung geprüfter Substanzen statthaft ist, kann unter Berücksichtigung der erhaltenen Versuchsergebnisse abgeleitet werden, daß die Sulfonylharnstoffmedikation bei vorbestehender Leberschädigung offensichtlich keine zusätzliche Belastung darstellt. Der Nachweis einer leberprotektiven Wirkung von Sulfonylharnstoffderivaten war auf Grund der vorliegenden tierexperimentellen Untersuchungsreihen nicht zu sichern.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wird nach einem kurzen historischen Überblick über die Entwicklung der peroralen Antidiabetica eine Darstellung der derzeitigen Kenntnisse über den Wirkungsmechanismus der Sulfonylharnstoffderivate gegeben. Dieser wird als ein Zusammenspiel zweier Partialeffekte - einer Direktwirkung an den Inselzellen des Pankreas und gewissen extrahormonalen, enzymatischen Stoffwechselreaktionen - interpretiert.

Die Frage der Nebenwirkungen der Sulfonylharnstoffe wird unter besonderer Berücksichtigung der Lebertoxizität anhand von klinischen und tierexperimentellen Beobachtungen untersucht, ferner über die zur Zeit diskutierten Möglichkeiten einer therapeutischen Anwendung der Sulfonylharnstoffe bei extradiabetischen Indikationen berichtet. Nach den bisherigen Kenntnissen kann als erwiesen gelten, daß eine langfristige Therapie mit Sulfonylharnstoffderivaten bei antidiabetischer Dosierung weder primär noch bei vorbestehender Hepatopathie leberschädigend wirkt. Ein hepatotroper Schutzeffekt kann nach den zur Verfügung stehenden Beobachtungsergebnissen nicht postuliert werden.

Aufgrund statistischer Auswertung eigener tierexperimenteller Untersuchungen an gesunden und artefiziell lebergeschädigten Versuchstieren wird zu beiden Fragenkomplexen Stellung genommen. In einer ersten Versuchsreihe wird das Verhalten verschiedener Serumenzyme (SGOT, SGPT, LDH) bei einer Langzeitbelastung von Versuchstieren mit D 860 untersucht. Es ergeben sich hierbei keine Abweichungen der SGPT- und LDH-Aktivitäten, jedoch eine mäßige Erhöhung der Enzymwerte für die SGOT. Diese wird nicht als Zeichen einer Leberparenchymschädigung aufgefaßt. Eine zweite Versuchsreihe untersucht die gleichen Enzymaktivitäten bei Tierkollektiven, die durch Thioacetamid-

gaben vorgeschädigt sind. Es ergibt sich kein abweichendes Verhalten der zusätzlich mit D 860 behandelten Tierkollektive von den ohne zusätzliche Medikation belassenen Versuchstieren.

Diese Ergebnisse zeigen - bei den entsprechenden Vorbehalten, die dem tierexperimentellen Modellversuch im Vergleich zur Humanpathologie anhaften -, daß einerseits durch die Sulfonylharnstoffmedikation weder eine primäre Leberschädigung noch eine Intensivierung vorbestehender Leberschäden zu erwarten ist, daß andererseits auch in dieser Versuchsanordnung der Nachweis einer leberprotektiven Wirkung der Sulfonylharnstoffderivate nicht zu sichern ist.

AN H A N G

Tabelle I.

Enzymaktivitäten bei langfristigen Gaben von D 860.

a) Stichproben nach 6-monatiger Belastung:

Tier Nr.	D 860 mg/kg	SGOT-E.	SGPT-E.	LDH-E.
1	500	654,3	23,8	41,0
2	500	302,4	26,5	52,4
3	500	265,4	29,1	44,6
4	500	307,7	29,1	47,2
5	1000	392,4	27,8	24,1
6	1000	260,1	35,7	26,7
7	1000	212,5	35,7	37,0
8	-	116,6	26,5	29,6
9	-	135,7	26,5	38,0
10	-	170,1	32,3	33,6
11	-	156,9	35,4	61,3

b) Stichproben nach 8-monatiger Belastung:

1	500	413,5	35,7	35,4
2	500	183,9	26,5	41,5
3	500	238,9	27,8	29,6
4	500	352,7	22,5	34,5
5	1000	244,2	33,1	31,9
6	1000	190,7	29,1	31,3
7	-	159,5	23,8	28,0
8	-	246,8	34,4	35,5
9	-	193,9	23,8	30,9
10	-	151,6	23,8	31,8

c) Stichproben nach 9-monatiger Belastung:

1	500	264,8	25,1	42,1
2	500	178,0	33,1	46,9
3	500	206,6	33,1	52,5
4	1000	199,3	29,1	55,3
5	1000	270,1	29,1	27,3

Tier-Nr.	D 860 mg/kg	SGOT-E.	SGPT-E.	LDH-E.
6	1000	328,9	34,4	30,9
7	-	140,3	39,2	39,0
8	-	168,4	26,2	30,9
9	-	190,3	40,4	40,3
10	-	172,4	24,8	28,0

Tabelle II.

Enzymaktivitäten bei langfristigen Thioacetamidbelastungen.

a) Im Anschluß an die Belastung ermittelte Stichproben:

Tier Nr.	D 860 mg/kg	SGOT-E.	SGPT-E.	LDH-E.
1	250	556,9	233,4	47,9
2	250	193,9	62,9	51,9
3	250	272,3	105,8	32,1
4	250	416,2	152,1	61,8
5	250	360,5	82,5	36,5
6	250	284,9	120,7	55,4
7	250	382,2	110,3	39,6
8	250	344,3	139,4	48,0
9	-	365,1	66,2	40,7
10	-	256,7	129,7	55,9
11	-	362,5	81,3	88,2
12	-	256,7	110,9	47,6
13	-	418,4	142,4	60,1
14	-	388,5	216,5	55,3
15	-	348,4	135,7	48,2
16	-	330,1	167,2	59,1

b) Die 6 Wochen nach Absetzen der Thioacetamidschädigung bestimmten Stichprobenwerte:

1	250	296,7	72,8	73,7
2	250	214,7	41,0	61,2
3	250	143,3	29,1	41,2
4	250	225,3	46,3	61,4

Tier Nr.	D 860 mg/kg	SGOT-E.	SGPT-E.	LDH-E.
5	250	127,4	30,4	29,6
6	250	169,7	33,1	63,7
7	250	172,4	43,7	44,9
8	250	123,3	25,1	29,2
9	-	214,7	41,0	64,7
10	-	341,7	35,7	44,7
11	-	116,8	21,2	42,5
12	-	108,9	26,5	34,1
13	-	259,7	49,0	43,2
14	-	233,2	38,4	46,7
15	-	209,4	46,3	35,7
16	-	220,0	55,6	39,5
17	-	209,4	58,2	26,5

c) 8 1/2 Wochen nach Absetzen der Thioacetamidschädigung ermittelte Stichproben:

1	250	188,2	21,2	47,0
2	250	183,0	27,8	51,8
3	250	206,8	27,8	44,1
4	250	304,7	27,8	77,6
5	250	246,5	29,1	63,4
6	250	161,8	35,7	71,5
7	250	178,0	34,0	47,1
8	250	222,6	41,0	53,4
9	-	196,2	26,5	34,4
10	-	246,5	45,0	50,9
11	-	124,7	18,5	50,2
12	-	116,8	19,8	37,1
13	-	200,3	28,1	71,0
14	-	123,3	27,8	49,8
15	-	143,0	61,2	55,3

VIII. LITERATURÜBERSICHT

- AARSETH, S. u. H. WILLUMSEN: Nord. Med. 1958, 564-565.
- ACHELIS, J. D. u. K. HARDEBECK: Dtsch. med. Wschr. 1955, 1452-1455.
- ANDERSON, G. E., A. J. PERFETTO, C. M. TERMINE u. R. R. MONACO:
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 92, 340-345 (1956).
- ASHMORE, J., G. F. CAHILL, A. EARLE u. S. ZOTTU: Diabetes 7, 1-8 (1958).
- ASHMORE, J., G. F. CAHILL u. A. B. HASTINGS: Metabolism 5, 774-777
(1956).
- ASHMORE, J., A. B. HASTINGS, F. B. NESBETT u. A. E. RENOLD: J. biol.
Chem. 218, 77 (1956).
- AWAPARA, P., B. SEALE: J. biol. Chem. 194, 497 (1952).
- BAIER, H.: Klin. Wschr. 1959, 399-401.
- BÄNDER, A.: Med. u. Chem. VI, 119-133 (1958).
- BÄNDER, A., A. HÄUSSLER u. J. SCHOLZ: Dtsch. med. Wschr. 1957, 1557-
1564.
- BÄNDER, A. u. J. SCHOLZ: Dtsch. med. Wschr. 1956, 889-891.
- BAIRD, J. D. u. L. J. P. DUNCAN: Scot. med. J. 2, 341-350 (1957).
- BARTELHEIMER, H. u. H. MARING: Klin. Wschr. 1956, 1011-1016.
- BAYREUTHER, H.: Arch. Psychiat. Nervenkr. 195, 435-445 (1957).
- BEBER, B. A. u. M. BEBER: Amer. J. Med. Sci. 238, 433-442 (1959).
- BERINGER, A.: Wien. med. Wschr. 109, 245-246 (1959).
- BERINGER, A. u. D. HOFMANN-CREDNER: Wien. med. Wschr. 107, 94-96
(1957).
- BERINGER, A. u. E. KEIBL: Wien. med. Wschr. 106, 792-798 (1956).
- BERINGER, A. u. H. THALER: Medizinische 1959, 41-43.
- BERSON, S. A., S. WEISENFELD, M. G. GOLDNER u. B. M. VOLK: Diabetes 6,
54-60 (1957).
- BERTHET, J., E. W. SUTHERLAND u. M. H. MAKMAN: Metabolism 5,
768-773 (1956).
- BERTRAM, F.: Ergebnisse einer dreijährigen oralen Therapie des Diabetes
mellitus. Arzneimittel-Forschung 8, 427-430 (1958).
- BERTRAM, F.: Indikationen und Ergebnisse der oralen Diabetesbehandlung.
Dtsch. med. Wschr. 1955, 1455-1460.
- BERTRAM, F., E. BENDTFELDT u. H. OTTO: Dtsch. med. Wschr. 1955,
1455-1460.
- BISCHOFF, F., M. SAHYUN u. M. L. LONG: J. biol. Chem. 81, 325 (1928).
- BLATHERWICK, N. R., M. SAHYUN u. E. HILL: J. biol. Chem. 75, 671 (1927).

- BOLINGER, R. E. u. H. J. GRADY: *Amer. J. med. Sci.* 233, 182-184 (1957).
- BOLLER, R. u. E. KÖCK: *Wien. med. Wschr.* 107, 351-357 (1957).
- BONHOTE, D.: *Schweiz. med. Wschr.* 87, 1318-1321 (1957).
- BORNSTEIN, J.: *Nature (Lond.)* 179, 534-535 (1957).
- BOSHELL, B. R., G. R. ZAHND u. A. E. RENOLD: *Metabolism* 9, 21-29 (1960).
- BRAUN, T., B. MOSINGER u. V. KUJALOWA: *Experientia (Basel)* 15, 190-191 (1959).
- BURCKHARDT, W. u. K. u. M. SCHWARZ-SPECK: *Schweiz. med. Wschr.* 87, 954 (1957).
- BUTTERFIELD, W. J. H. u. J. L. CAMP, C. HARDWICK, H. E. HOLLING: *Lancet* 1957 I, 753-756.
- CABARROU, A., H. v. CAINO, F. SCHAPOSNIK, L. PIANZOLA u. N. O. BIANCHI: 3. Kongr. d. internat. Diab. Feder. Düsseldorf. 1958, S. 436-439. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- CAHILL, G. F., A. B. HASTINGS u. J. ASHMORE: *Diabetes* 6, 26-27 (1957).
- CAMERINI-DAVALOS, R., H. F. ROOT u. A. MARBLE: *Diabetes* 6, 74-77 (1957).
- CAMPBELL, J. u. V. LAZIDINS: *Canad. med. Ass.* 74, 962-965 (1956).
- CAREN, R. u. L. CORBO: *J. clin. Invest.* 36, 1546-1550 (1957).
- CATTANEO, R.: *Arch. Stud. Fisiopat. Ricambio* 21, 351-352 (1957).
- CHERNICK, S. S., I. L. CHAIKOFF u. S. ABRAHAM: *J. biol. Chem.* 193, 793 (1951).
- CHRISTOPHE, J., R. BELLENS u. W. GEPTS: Etude expérimentale d'un sulfamide hypoglycémiant. II. Action du R. P. 2254 sur la glycémie du rat normal et du rat diabétique. *Ann. Endocr. (Paris)* 16, 956-961 (1956).
- CHRISTOPHE, J., R. BELLENS u. W. GEPTS: Etude expérimentale de l'action du BZ 55 sur le rat normal ou alloxanisé. II. Action sur la glycémie. *Ann. Endocr. (Paris)* 17, 291-298 (1956).
- CLARKE, D. W., M. DAVIDSON, E. SCHÖNBAUM u. H. SENMAN: *Canad. med. Ass. J.* 74, 966-968 (1956).
- COHEN, J. L. u. A. D. COHEN: *Canad. med. Ass. J.* 80, 629-632 (1959).
- CONSTAM, G. R.: Therapie des Diabetes mellitus. Benno Schwabe, Basel 1950.
- CONSTAM, B. R., D. BONHOTE, H. FELLMANN, A. HELLER, A. LABHART, O. SPÜHLER u. V. WENGER: *Schweiz. med. Wschr.* 86, 699-705 (1956).
- CORI, C. F. u. G. T. CORI: *J. biol. Chem.* 85, 275 (1929).
- COX, R. W., E. D. HENLEY, E. B. FERGUS u. R. H. WILLIAMS: Sulfonyleureas and diabetes mellitus. I. Clinical evaluation. *Diabetes* 5, 358-365 (1956).

- COX, R. W., E. D. HENLEY u. R. H. WILLIAMS: Sulfonylureas and diabetes mellitus. II. Preliminary studies of the mechanism of action. *Diabetes* 5, 366-371 (1956).
- CREUTZFELDT, W.: Pankreasbefunde bei Diabetikern nach Behandlung mit D 860. *Dtsch.med. Wschr.* 1956, 841-844.
- CREUTZFELDT, W.: Morphologische Befunde an der Leber von Diabetikern nach langfristiger Sulfonylharnstoffbehandlung und an verschiedenen Organen nach Synthalin- und DBI-Vergiftung beim Tier. 3. Kongr. d. intern. Diab. Feder. Düsseldorf 1958, S. 264-274. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
- CREUTZFELDT, W. u. K. BÖTTCHER: *Dtsch.med. Wschr.* 1956, 896-899.
- CREUTZFELDT, W., L. DETERING u. O. WELTE: *Dtsch.med. Wschr.* 1957, 1564-1568.
- CREUTZFELDT, W. u. H. FINTER: *Dtsch.med. Wschr.* 1956, 892-896.
- CREUTZFELDT, W., F. KÜMMERLE u. E. KERN: *Dtsch.med. Wschr.* 1959, 541-549.
- CREUTZFELDT, W. und A. MOENCH: *Endokrinologie* 36, 167 (1958).
- CREUTZFELDT, W. u. H. SÜTTERLE: Recherches expérimentales sur le mécanisme d'action des sulfonamides hypoglycémiants. *Ann. Endocr. (Paris)* 18, 184 (1957).
- CREUTZFELDT, W. u. H. SÜTTERLE: Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten des Leber- und Diaphragmaglykogens der Ratte unter Insulin und D 860. *Dtsch.med. Wschr.* 1957, 1574-1576.
- CREUTZFELDT, W. und E. TECKLENBORG: *Klin. Wschr.* 1955, 43-44.
- CUGADDA, E., A. MANOLINI u. R. LISPENEA: *Minerva med. (Torino)* 49, 1500 (1958).
- CZYZYK, A.: *Arzneimittel-Forsch.* 6, 700-701 (1956).
- DAVIS, J. C.: *J. Path. Bact.* 64, 575-584 (1952).
- DOLGER, H.: Clinical experience with Orinase. *Metabolism* 5, 946-952 (1956).
- DOLGER, H.: Experience with the tolbutamide treatment of 500 cases of diabetes on an ambulatory basis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 71, 275-279 (1957).
- DOWNIE, E., J. BORNSTEIN u. H. BREIDAHN: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 74, 810-816 (1959).
- DULIN, W. E. u. R. L. JOHNSTON: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 71, 177-191 (1957).
- EGELI, E. S. u. H. ALP: *Z. klin. Med.* 155, 191-194 (1958).
- EGER, W. u. A. REINICKE: *Arzneimittel-Forsch.* 9, 363-365 (1959).
- EHRHARDT, G.: *Naturwissenschaften* 43, 93 (1956).

- EICKSTEDT, K. W. v.: Arzneimittel-Forsch. 8, 454-459 (1958).
- ELRICK, H. u. R. PURNELL: Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 38-45 (1957).
- EPPINGER, H.: Die Leberkrankheiten. Wien: Springer-Verlag 1937.
- FELLER, J. u. H. J. KÜPPER: Medizinische 1956, 1641-1645.
- FERNER, H. u. W. RINGE: Morphologische Untersuchungen über die Wirkung des N1-Sulfanyl-N2-n-butyl-carbamid auf die Inselzellen von Kaninchen und Ratten. Arzneimittel-Forsch. 6, 256-260 (1956).
- FERNER, H. u. W. RUNGE: Die Langerhans'schen Inseln von Diabetikern nach Behandlung mit dem oralen Antidiabeticum BZ 55. Dtsch. med. Wschr. 1956, 311-333.
- FISHER, R. A. u. F. YATES: Statistical Tables for Agricultural, Biological and Medical Research. Edinburgh: Verlag Clover and Boyd, 1953.
- FITHUGH, O. G. u. A. A. NELSON: Science 626 (1948).
- FRANK, E., M. NOTHMANN u. A. WAGNER: Über synthetisch dargestellte Körper mit insulinartiger Wirkung auf den normalen und den diabetischen Organismus. Klin. Wschr. 1926, 2100-2107.
- FRANK, E., M. NOTHMANN u. A. WAGNER: Über die experimentelle und klinische Wirkung des Synthalin B. Klin. Wschr. 1928, 1996-2000.
- FRANK, E., R. STERN u. M. NOTHMANN: Z. ges. exp. Med. 24, 341 (1921).
- FRANKE, H. u. J. FUCHS: Dtsch. med. Wschr. 1955, 1449-1452.
- FRITZ, I. B., J. V. MORTON, M. WEINSTEIN u. R. LEVINE: Studies on the mechanism of action of the sulfonylureas. Metabolism 5, 744-748 (1956).
- FRITZ, I. B., M. WEINSTEIN, J. V. MORTON u. R. LEVINE: The effect of carbamide (BZ 55) on blood sugar levels of depancreatized dogs given insulin. Endocrinology 60, 76-79 (1957).
- FROST, I.: Brit. Med. J. 1958 I, 381-383.
- FRY, I. K. u. P. H. WRIGHT: Brit. J. Pharmacol. 12, 350-355 (1957).
- FÜHNER, H.: Die Guanidingruppe. Handbuch der exper. Pharmacol. Bd. I, S. 684-701. Berlin: Springer-Verlag 1923.
- FURTHMÜLLER, W., P. KÜHNE, F. MARTINI, G. STÖTTER: Dtsch. med. Wschr. 1957, 1531-1533.
- GAMBASSI, G. u. A. PIRELLI: Arch. Pat. clin. med. 34, 161-242 (1957).
- GEIGY, J. R. (Basel): Wissenschaftliche Tabellen, Ausgabe 1955.
- GEORGII, A., H. MEHNERT, R. PROSIEGEL, H. KASTEIN u. G. STOCK: Z. ges. exp. Med. 131, 181-190 (1959).
- GEPTS, W.: Die histopathol. Veränderungen der Langerhansschen Inseln und ihre Bedeutung in der Frage der Pathogenese des menschlichen Diabetes. Endokrinologie 36, 185-211 (1958).
- GEPTS, W.: Histopathologie des îlots de Langerhans après traitement oral du diabète. Diabète 1958, 215-222.

- GEPTS, W., J. CHRISTOPHE u. R. BELLENS: Ann. Endocrin. 17, 278-290 (1956).
- GREEN, D. E. u. H. BEINERT: Am. Rev. of Biochem. 24, 1 (1955).
- GREIF, S.: Wien. med. Wschr. 108, 318-322 (1958).
- GUPTA, D. N.: Nature (London) 1955, 4449.
- HAACK, E.: Arzneimittel-Forsch. 8, 444-448 (1958).
- HALLER, H.: Z. Ges. inn. Med. 12, 150-158 (1957).
- HEITZER, P.: Chromosoma (Berlin) 7, 28 (1955).
- HEINEMANN, A., M. WEINSTEIN u. R. LEVINE: Metabolism 5, 972-977 (1956).
- HESSE, E. u. G. TAUBMANN: Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol. 142, 290 (1929).
- HOFSTETTER, J. R. u. C. RAMEL: Schweiz. med. Wschr. 88, 821-827 (1958).
- HOLT, C. v. u. H. FERNER: Z. Zellforsch. 42, 305-330 (1955).
- HOLT, C. v., L. v. HOLT u. B. KRÖNER: Naturwissenschaften 43, 162 (1956).
- HOLT, C. v., L. v. HOLT, B. KRÖNER u. J. KÜHNNAU: Chemische Ausschaltung der A-Zellen der Langerhansschen Inseln. Naturwissenschaften 41, 166 (1954).
- HOLT, C. v., L. v. HOLT, B. KRÖNER u. J. KÜHNNAU: Chemische Ausschaltung der A-Zellen der Langerhansschen Inseln. Naunyn-Schmiedebergs Arch. exp. Path. Pharmacol. 224, 66-77 (1955).
- HOLT, C. v., J. KRACHT, B. KRÖNER u. L. v. HOLT: Schweiz. med. Wschr. 86, 1123 (1956).
- HOUSSAY, B. A. u. R. H. MIGLIORINI: C. R. Soc. Biol. (Paris) 150, 1620-1621 (1956).
- HOUSSAY, B. A. u. J. C. PHENOS: Metabolism 5, 727-732 (1956).
- HORN, H. D. u. D. AMELUNG: Dtsch. med. Wschr. 1957, 619.
- HSIEH, K. M. u. H. T. BLUMENTHAL: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 91, 626 (1956).
- ILLIG, H.: Münch. med. Wschr. 1958, 117-119.
- JAKOBS, G., G. REICHARD, E. H. GOODMAN, B. FRIEDMANN u. S. WEINHOUSE: Diabetes 7, 358-364 (1958).
- JANBON, M., J. CHAPTAL, A. VEDEL u. J. SCHAAP: Soc. Sci. méd. biol. Montpellier 1942, 222-250, Montpellier méd. 1942, 441.
- JANBON, M., P. LAZERGES u. J. H. METROPOLITANSKI: Soc. Sci. méd. biol. Montpellier 1942, 212-221, Montpellier méd. 1942, 489.
- JORES, J. u. J. KRACHT: Acta endocrinologica 32, 243-254 (1959).
- KABELITZ, G. u. W. KAPPEL: Dtsch. med. Wschr. 1958, 1167.
- KAEDING, A.: Dtsch. Gesundh.-Wes. 14, 345-348 (1959).
- KALDOR, A. u. G. POGATSA: Lancet 1959 I, 386.

- KALDOR, A. u. G. SZINAY: Diabetes 9, 126-128 (1960).
- KAPLAN, N. O.: Record of Chem. Progr. 16, 177 (1955).
- KINSELL, L. W., G. D. MICHAELS, F. R. BROWN u. R. W. FRISKEY: Metabolism 5, 864-867 (1956).
- KIRNBERGER, E. J., W. BRAUN, G. STILLE u. V. WOLF: Arzneimittel-Forsch. 8, 72-76 (1958).
- KIRTLEY, W. R.: Diabetes 6, 72-73 (1957).
- KIRTLEY, W. R., A. S. RIDOLFO, M. A. ROOT u. R. C. ANDERSEN: Diabetes 5, 351-357 (1956).
- KNICK, B.: Ärztl. Wschr. 13, 618-623 (1958).
- KNICK, B. u. K. EMRICH: Klin. Wschr. 1957, 812-814.
- KNICK, B. u. J. RUCKES: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 65, 709-712 (1959).
- KNICK, B., J. RUCKES u. K. EMRICH: Z. exp. Med. 130, 237-246 (1958).
- KNITSCH, K. W.: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 309, 184-189 (1957).
- KNITSCH, K. W. u. G. MOHNIKE: Naturwissenschaften 43, 474 (1956).
- KRACHT, J.: Medizinische 12, 525 (1959).
- KRACHT, J., C. v. HOLT u. L. v. HOLT: Endokrinologie 34, 129-146 (1957).
- KRACHT, J., B. KRÖNER, C. v. HOLT u. L. v. HOLT: Naturwissenschaften 44, 16-17 (1957).
- KRACHT, J. u. J. G. RAUSCH-STROOMANN: Naturwissenschaften 43, 180 (1956).
- KREBACH, H.: Derm. Wschr. 140, 1091-1096 (1959).
- KÜHNLEIN, E.: Ärztl. Prax. 9, 23, 2-3 (1957).
- KUIZENGA, M. H.: Votr. Amer. Chem. Soc. (Atlantic City, N. Y.) (1956).
- LADUE, J. S., F. WROBLEWSKI u. A. KARMEN: Science 120, 497 (1954).
- LAMPRECHT, W. u. I. TRAUTSCHOLD: Nachweis eines direkten Insulineffektes auf den Kohlenhydratstoffwechsel der Leber. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 311, 245-255 (1958).
- LAMPRECHT, W. u. I. TRAUTSCHOLD: Zum Wirkungsmechanismus des N1-Sulfanyl-N2-n-Butylcarbamid. Arzneimittel-Forsch. 6, 462-464 (1958).
- LANG, S. u. S. SHERRY: Metabolism 5, 733-738 (1956).
- LANGDON, R. G. u. D. R. WEAKLEY: J. biol. Chem. 214, 167 (1955).
- LASZLO, B., P. BRUCKNER, E. GÖRGEY u. B. TOTH: Orv. Het. 100, 1411-1413 (1959).
- LAWRENCE, R. D.: Brit. med. J. 1959 I, 644.
- LEACH, B. E. u. J. C. FORBES: Proc. Soc. exper. Biol. (N. Y.) 48, 361-363 (1941).
- LEDUC, E. H. u. J. W. WILSON: Arch. Path. 65, 147-157 (1958).
- LINKE, A., K. RIEDERLE u. E. SCHULZ: 6. Sympos. Dtsch. Ges. Endokrinol., 1959. Heidelberg: Springer-Verlag. S. 252-258.

- LOUBATIÈRES, A. : Relations entre la structure moléculaire et l'activité hypoglycémiant des amino-benzène-sulfamido-alkylthiodiazols. C. R. Soc. Biol. (Paris) 138, 830 (1944).
- LOUBATIÈRES, A. : Etude physiologique et pharmacodynamique de certains dérivés sulfamidés hypoglycémiant. Arch.int.Physiol. 54, 174-177 (1946).
- LOUBATIÈRES, A., P. BOUYARD u. C. FRUTEAU DE LACLOS: C. R. Soc. Biol. (Paris) 149, 2187 (1955).
- LICHTWITZ, L. : Handbuch norm.u.pathol.Physiol. Berlin: Springer-Verlag 1929.
- MAGYAR, I., K. MEGYESI u. A. PALYI: Z. inn. Med. 12, 1000-1003 (1957).
- MARBLE, A. u. CAMERINI-DAVALOS: Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 239-248 (1957).
- MARK, R. E. : Wien. med. Wschr. 108, 794-798 (1958).
- MEHNERT, H. u. A. GEORGII: Medizinische 1959, 44-47.
- MILLER, M. u. J. W. CRAIG: Metabolism 5, 868-875 (1956).
- MILLER, M., M. S. MACKENZIE, W. R. DRUCKER, M. CAMMARN u. H. WOODWARD: Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 51-61 (1957).
- MILLER, W. L. u. W. E. SULIN: Science 123, 584-585 (1956).
- MILLER, W. L., J. J. KRAKE, M. J. VAN DER BROOK: J. Pharmacol. exp. Ther. 119, 513-521 (1957).
- MIRSKY, I. A. : Metabolism 5, 138-143 (1956).
- MIRSKY, I. A. u. D. DIENGOTT: J. clin. Endocr. 17, 603-607 (1957).
- MIRSKY, I. A., G. PERISUTTI u. D. DIENGOTT: Metabolism 5, 156-161 (1956).
- MIRSKY, I. A., G. PERISUTTI u. S. GITELSON: Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 103-111 (1957).
- MIRSKY, I. A., G. PERISUTTI u. R. JINKS: Proc. Soc. exper. Biol. (N. Y.) 91, 475-477 (1956).
- MOHNIKE, G. u. A. CZYZYK: Dtsch. med. Wschr. 1957, 1579-1580.
- MOHNIKE, G., A. CZYZYK u. H. ULRICH: Dtsch. med. Wschr. 1957, 1542-1544.
- MOHNIKE, G. u. W. KNITSCH: Dtsch. med. Wschr. 1956, 891.
- MOHNIKE, G., W. KNITSCH u. E. JUTZI: Dtsch. med. Wschr. 1957, 1524-1525.
- MOLANDER, D. W., F. WROBLEWSKI u. J. S. LA DUE: J. Labor. Klin. Med. (St. Louis) 46, 831 (1955).
- MOORHOUSE, J. H. u. R. M. KARK: Metabolism 5, 847-863 (1956).
- MOORHOUSE, J. A., R. M. KARK u. D. S. GELLMAN: Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 97-102 (1957).

- MORTIMORE, G. E. u. F. TIETZE: Ann. N. Y. Acad. Sci. 82, 329-337 (1959).
MORTIMORE, G. E., F. TIETZE u. DE WITT STETTEN: Diabetes 8, 307-314 (1959).
MOSCA, L.: Quart. J. exp. Physiol. 43, 265-269 (1958).
MÜTING, D.: Ärztl. Wschr. 1957, 77-81 (1957).
NEUDECK, W.: Dtsch. Gesundh. - Wes. 12, 1326-1328 (1957).
NEUMANN, E.: Dermatologica (Basel) 117, 172-178 (1958).
PAGE, O. C., R. L. HARE, J. W. STEPHENS u. B. HOLCOMB: New Engl. J. Med. 256, 74 (1957).
PETERS, G.: Dtsch. med. Wschr. 1957, 311 u. 320.
PETZOLD, H.: Ärztl. Forsch. 13 (I), 162-167 (1959).
PETZOLD, H. u. K. STÖHR: Z. Ges. inn. Med. 18, 853 (1959).
PFEFFER, K. H., K. J. FUCHS, V. ZIMMER, H. KLUWE u. W. MICHEL: Ärztl. Wschr. 1958, 97-105.
PFEIFFER, E. F., M. PFEIFFER, H. DITSCHUNEIT u. CHANG-SU AHN: Clinical and experimental studies of insulin secretion following tolbutamide and metahexamide administration: Ann. N. Y. Acad. Sci. 82, 479-495 (1959).
PFEIFFER, E. F., M. PFEIFFER, H. DITSCHUNEIT u. CHANG-SU AHN: Über die Bestimmung von Insulin im Blute am epididymalen Fetthanhang der Ratte mit Hilfe markierter Glukose. Klin. Wschr. 1959, 1239-1245.
PFEIFFER, E. F., H. STEIGERWALD, W. SANDRITTER, A. BÄNDER, A. MAGER, V. BECKER u. K. RETIENE: Dtsch. med. Wschr. 1957, 1568-1574.
POSSNER, W.: Dtsch. Gesundh. - Wes. 14, 765-770 (1959).
POZZA, G., G. GALANSINO u. P. FOA: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 93, 539-542 (1956).
PURNELL, R., Y. AVAI, E. PRATT, C. HLAD u. H. ELRICK: Metabolism 5, 778-787 (1956).
QUITZOW, G., R. SOIES u. G. WUNDRAK-WALDHEIM: Wien. med. Wschr. 107, 464-466 (1957).
RATHER, L. J.: Bull. Johns Hopkins Hosp. 88, 35 (1951).
RECANT, L. u. G. L. FISCHER: Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 62-70 (1957).
RENOLD, A. E., D. B. MARTIN, B. R. BOSHELL u. G. W. THORN: Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 71-80 (1957).
RENOLD, A. E., A. I. WINEGRAD, E. R. FROESCH u. G. W. THORN: Metabolism 5, 757-767 (1956).
RICKETTS, H. T., H. L. WILDBERGER u. H. SCHMID: Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 170-176 (1957).
ROOT, M. A.: Diabetes 6, 12-16 (1957).

- RÖTTGER, P. H. : Dissertation, Freiburg i. Br. 1959.
- SACHSSE, B. : Ärztl. Wschr. 1958, 886-887.
- SCHAMBYE, P. : On the action of BZ 55 and D 860 in pancreatectomized dogs. Diabetes 6, 146-150 (1957).
- SCHAMBYE, P. : Etude physiologique et toxicologique de quelques substances hypoglycémiantes sur chiens normaux et dépancréatés. Ann. Endocr. (Paris) 18, 174-183 (1957).
- SCHAMBYE, P. u. F. TARDING: Ann. N. Y. Acad. Sci. 74, 557-566 (1959).
- SCHAETZ, G. : Persönl. Mitteilung.
- SCHÖLER, H. F. u. J. H. GAARENSTROOM: Acta endocr. (Kbh) 29, 147-159 (1958).
- SCHOLZ, J. u. A. BÄNDER: Dtsch. med. Wschr. 1956, 825-826.
- SCHREUS, H. u. H. IPPEN: Dtsch. med. Wschr. 1958, 98.
- SCHWIETZER, C. : Biochem. Zschr. 328, 291-300 (1956).
- SEARLE, G. L., G. E. MORTIMORE, R. E. BUCKLEY u. W. A. REILLY: Diabetes 8, 167-173 (1959).
- SEIDLER, I., W. ENDRES, R. SEUS, M. FURTHMÜLLER, F. MARTINI, T. DORF-MÜLLER u. G. STÖTTER: Dtsch. med. Wschr. 1957, 1518-1523.
- SELTZER, H. S. u. W. L. SMITH: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 100, 171-174 (1959).
- SELTZER, H. S. u. W. L. SMITH: Diabetes 8, 417-424 (1959).
- SIMKO, V. : Dtsch. Z. f. Verd. u. Stoffw. Krankh. 19, 222 (1959).
- SINGH, I. u. P. N. BARDHAN: Lancet 1959 II, 1141-1142.
- SIREK, A. u. O. V. SIREK: Canad. med. Ass. J. 74, 960-962 (1956).
- SIREK, A., O. V. SIREK u. C. BEST: Diabetes 6, 151-153 (1957).
- SIREK, A., O. V. SIREK, F. C. MONKHOUSE, Y. HANUS u. C. BEST: Diabetes 8, 284-288 (1959).
- SIREK, A., O. V. SIREK, J. LOGOTHETOPOULOS u. C. BEST: Metabolism 8, 577-584 (1959).
- SLOTTA, K. H. u. R. TSCHESCHE: Ber. dtsch. chem. Gesellsch. 62 B, 1398-1405 (1929).
- STAHL, J. u. M. DORNER: Ann. Andocr. (Paris) 18, 258-259 (1957).
- STEINBERG, D. u. B. H. OSTROW: Proc. Soc. exper. Biol. Med. (N. Y.) 89, 31 (1955).
- STERZING, L. : Dtsch. med. Wschr. 1958, 100.
- STEWART, G. A. : Ann. Endocr. (Paris) 18, 230-245 (1957).
- STÖTTER, G. : Münch. med. Wschr. 1958, 1069-1073.
- STOWERS, J. M., L. W. CONSTABLE u. R. B. HUNTER: Ann. N. Y. Acad. Sci. 74, 689-695 (1959).

- STRÄSSLE, R. u. A. FLETSCHER: Klin. Wschr. 1957, 719-722.
- STRAUZENBERG, S. E. u. H. HALLER: Dtsch. med. Wschr. 1959, 1097-1103.
- SUMM, H. D.: Dissertation, Freiburg 1958.
- SUMM, H. D., W. CREUTZFELDT u. K. WALLENFELS: Klin. Wschr. 1960, 85-87.
- SWENSSON, A.: Acta physiol. scand. 11, 1-158 (1945).
- TARDING, F. u. P. SCHAMBYE: Endokrinologie 36, 222-228 (1958).
- TULLOCH, J. A.: Diabetes 7, 316-319 (1958).
- TYBERGHEIN, J. M., Y. D. HALSEY u. R. H. WILLIAMS: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 92, 322-324 (1956).
- UMBER, F.: Handbuch inn. Med. Bd. II/2, 2. Aufl. Berlin: Springer-Verlag 1926.
- UNGAR, G., L. FREEDMAN u. S. L. SHAPIRO: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 95, 190 (1957).
- VALLANCE-OWEN, J., G. F. JOPLIN u. R. FRASER: Lancet 1959 I, 584-586.
- VARELA, B., R. CANZANI u. J. MILSTEIN: Arch. Mal. Appar. dig. 46, 305 (1957).
- VAUGHAN, M.: Science 123, 885 (1956).
- VAUGHAN, M.: Diabetes 6, 16-18 (1957).
- VOELKEL, A.: Klin. Wschr. 1956, 210-211.
- VOLK, B. W., M. G. GOLDNER, S. WEISENFELD u. S. S. LAZARUS: Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 141-151 (1957).
- VONKENNEL, J. u. J. KIMMIG: Klin. Wschr. 1941, 2-8.
- WALDMANN, K.: Med. Klin. 1957, 1794-1796.
- WALLENFELS, K., W. CREUTZFELDT u. H. D. SUMM: 3. Kongr. der internat. Diab. Feder. Düsseldorf 1958. S. 330-336, Stuttgart: Georg Thieme Verlag 1959.
- WALLENFELS, K. u. H. D. SUMM: Klin. Wschr. 1957, 849-851.
- WALLENFELS, K., H. D. SUMM u. W. CREUTZFELDT: Dtsch. med. Wschr. 1957, 1581-1585.
- WATANABE, C. K.: J. biol. Chem. 33, 253 (1918).
- WARBURG, O. u. W. CHRISTIAN: Biochem. Z. 286, 81 (1936) und 314, 399 (1943).
- WEAVER, J. A., T. E. PROUT u. G. W. SCOTT: Brit. med. J. 1958 I, 425-429.
- WEBER, G. u. A. CANTERO: Metabolism 7, 333-337 (1958).
- WENDEROTH, H. u. F. BALZEREIT: Med. Klin. 1958, 1560-1561.
- WILD, H. u. H. W. LINDEN: Dtsch. med. J. 10, 286-292 (1959).
- WILLIAMS, R. H. u. B. W. TUCKER: Metabolism 5, 801-806 (1956).
- WILSON, J. W.: Fed. Proc. 11, 433-434 (1952).
- WILSON, J. W., E. H. LEDUC u. L. E. ARNOLD: Fed. Proc. 9, 349 (1950).

- WOLFF, F. W., G. A. STEWART u. M. F. CROWLEY: Brit. med. J. 1956 II, 440-445.
- WROBLEWSKI, F.: Clin. Chem. 2, 250 (1956).
- WROBLEWSKI, F. u. LA DUE, J. S.: Serum Glutamic Pyruvic Transaminase in Cardiac and Hepatic Disease, Proc. Soc. exp. biol. Med. (N. Y.) 91, 569 (1956).
- WROBLEWSKI, F. u. LA DUE, J. S.: Serum Glutamic Pyruvic Transaminase in Hepatic Disease. Ann. Int. Med. 45, 801 (1956).
- WROBLEWSKI, F. u. LA DUE, J. S.: J. Amer. Med. Ass. 160, 1130 (1956).
- ZACCO, M., M. LEONARDI u. U. NERINI: Minerva med. (Torino) 49, 1537-1538 (1958).
- ZEFFREN, L. u. S. SHERRY: Metabolism 6, 504-508 (1957).

Nachtrag zur Literaturübersicht:

- BÜCHER bei BEISENHERZ, G., H. J. BOLTZE, Th. BÜCHER, R. CZOK, K. H. GARBADE, E. MEYER-ARENDT und G. PFLEIDERER: Z. Naturforsch. 8 b, 555 (1953).
- CHINSKY, M., G. L. SHMAGRANOFF u. D. SHERRY: J. Laborat. Klin. Med. (St. Louis) 47, 108 (1956).
- COHEN, P. P. und G. L. HEKHIUS: J. Biol. Chem. (Baltimore) 47, 108 (1946).
- EULER, H. v.: Chemie der Enzyme II/3, J. v. Bergmann, München 1934.
- De RITIS, F., M. COLTORTI u. G. GIUSTI: Science 124, 32 (1956).
- STEIGERWALD, H., E. BÖHLE, K. SCHÖFFLING u. E. F. PFEIFFER: Dtsch. med. Wschr. 1957, 1554-1556.

Herzlichsten Dank Herrn Professor Knick für die
Überlassung des Themas sowie für die wertvollen
Anregungen bei der Durchführung der Untersuchun-
gen.

LEBENS LAUF

Am 12.10.1925 wurde ich als Sohn des Landwirtes Johann Alois Emrich und dessen Frau Josefine, geb. Lumb, in Mainz-Mombach geboren. Nach dem Besuch der vierjährigen Grundschule trat ich an Ostern 1936 in das damalige Realgymnasium in Mainz ein. Im Sommer 1943 erhielt ich als Schüler der 8. Klasse den Reifevermerk und wurde am 20.8.1943 Soldat. Am 11.10.1944 geriet ich als Reserveoffiziersanwärter an der Italienfront in amerikanische, später in englische Gefangenschaft. Nach meiner Rückkehr am 22.4.1948, und nachdem der Reifevermerk seine Gültigkeit verloren hatte, legte ich im Februar 1949 im Gymnasium am Kurfürstlichen Schloß in Mainz eine erneute Reifeprüfung ab und begann im Sommer-Semester 1949 an der Johannes Gutenberg-Universität in Mainz das Medizinstudium. Nach bestandenenem Physik (Oktober 1951) und klinischen Semestern in München und Mainz schloß ich am 22.11.1954 das Studium mit dem Staatsexamen in Mainz ab. In der Zeit vom 15.1.1955 bis zum 31.1.1958 war ich wissenschaftlicher Assistent an der Medizinischen Universitätsklinik in Mainz (Prof. Dr. Voit), vom 1.2.1958 bis zum 15.10.1960 Assistenzarzt an der ebenfalls unter der ärztlichen Leitung von Herrn Prof. Dr. Voit stehenden Rheumaklinik Bad Kreuznach. Seit 1.11.1960 bin ich Assistent am Röntgen-Institut der Diakonie-Anstalten in Bad Kreuznach.

